

Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava  
Univerzitní studijní programy



*Bakalářská práce*

Otěrové částice z brzdového obložení automobilů  
a jejich akutní akvatická toxicita  
pro sladkovodní zelené řasy

(Automotive brake wear particles and their acute aquatic  
toxicity to freshwater green algae)

15. 5. 2014

Student:  
Vedoucí bakalářské práce:

Karla Kučová  
Doc. Mgr. Jana Kukutschová, Ph.D.

## Zadání bakalářské práce

Student: **Karla Kučová**

Studijní program: B3942 Nanotechnologie

Studijní obor: 3942R001 Nanotechnologie

Téma: Otěrové částice z brzdového obložení automobilů a jejich akutní  
akvatická toxicita pro sladkovodní zelené řasy  
Automotive brake wear particles and their acute aquatic toxicity to  
freshwater green algae

### Zásady pro vypracování:

Cílem bakalářské práce je experimentální posouzení toxického působení otěrových částic, které se mohou uvolňovat při brzdění automobilů do životního prostředí, na růst sladkovodních zelených řas. Práce bude tvořena následujícími částmi:

1. Literární rešerše zaměřená na problematiku uvolňování otěrových částic, včetně nanometrických frakcí, frikčními procesy při brzdění automobilů a jejich potenciální environmentální rizika.
2. Experimentální část zahrnující odběr sedimentované frakce otěrových částic, charakterizaci vybranými analytickými technikami a testování akutní akvatické toxicity pro sladkovodní zelené řasy rodu *Desmodesmus subspicatus* a *Chlorella vulgaris*.
3. Interpretace a diskuze získaných dat s následným posouzením možných environmentálních rizik spojených s uvolňováním částic studovaného materiálu do životního prostředí.

The aim of the bachelor thesis is experimental evaluation of toxic properties of brake wear particles, which may be emitted by braking of automobiles to the environment, to growth of freshwater green algae. The thesis will include:

1. Literature review focused on release of brake wear particles, including the nano-sized fractions, by friction processes associated with braking of automobiles and their potential environmental risks.
2. Experimental part including sampling of wear particles settled fraction, characterization using selected analytical techniques and assessment of acute aquatic toxicity to freshwater green algae strains *Desmodesmus subspicatus* and *Chlorella vulgaris*.
3. Interpretation and discussion of the data obtained with subsequent prediction of potential environmental risks related to the release of particles from the studied material to the environment.

### Seznam doporučené odborné literatury:

1. C.D. Klaassen: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, McGraw Hill, 2013, ISBN 978-0071769235.
2. J. Prokeš et al. Základy toxikologie, Galén, 2005, ISBN 80-7262-301-X.
3. V. Tomášek: Frikční kompozity pro brzdové systémy automobilů a metody jejich charakterizace, VŠB-TU Ostrava, 2009, ISBN 978-80-248-2085-9.

Formální náležitosti a rozsah bakalářské práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Mgr. Jana Kukutschová, Ph.D.**

Datum zadání: 21.10.2013

Datum odevzdání: 15.05.2014



prof. Ing. Jaromír Pištora, CSc.  
*vedoucí katedry*



prof. Ing. Petr Noskievič, CSc.  
*prorektor pro studium*

**Místopřísežné prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem celou bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením vedoucího práce a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu.

V Ostravě, 15. 5. 2014

.....

Karla Kučová

## Prohlášení

- *Byla jsem seznámena s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. - autorský zákon, zejména § 35 - využití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a využití díla školního a § 60 - školní dílo.*
- *Beru na vědomí, že Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB-TUO) má právo nevýdělečně, ke své vnitřní potřebě, bakalářskou práci užít (§ 35 odst. 3).*
- *Souhlasím s tím, že jeden výtisk bakalářské práce bude uložen v Ústřední knihovně VŠB-TUO k prezenčnímu nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího bakalářské práce. Souhlasím s tím, že údaje o bakalářské práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO.*
- *Bylo sjednáno, že s VŠB-TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.*
- *Bylo sjednáno, že užít své dílo - bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB-TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB-TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).*
- *Beru na vědomí, že odevzdáním své práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, bez ohledu na výsledek její obhajoby.*

V Ostravě 15. 5. 2014

.....

Karla Kučová

Adresa trvalého pobytu: Dobratice 37, 739 51, Česká republika



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

### Poděkování

Tato práce byla vypracována s podporou projektu Nanotechnologie – báze pro mezinárodní spolupráci, reg. č. CZ.1.07/2.3.00/20.0074 podpořeného Operačním programem Vzdělávání pro konkurenceschopnost, financovaného ze strukturálních fondů EU a státního rozpočtu ČR.

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala své vedoucí doc. Mgr. Janě Kukutschové, Ph.D. za odborné rady a poskytnuté informace během tvorby této práce. Dále děkuji Mgr. Pavlíně Peikertové i Ing. Haně Barošové za všestrannou pomoc při provedení testů akutní akvatické toxicity, Ing. M. Vaculíkovi, Ph.D. za provedení odběru otěrových částic, Mgr. Pavlíně Peikertové a Mgr. Kateřině Dědkové za analýzy vzorků jednak na skenovacím elektronovém a Ramanově mikroskopu. Všem jmenovaným také děkuji za jejich spolupráci, trpělivost a především ochotu mně pomáhat. V neposlední řadě bych poté ráda poděkovala za projevenou oporu ze strany mé rodiny.

## Anotace

Kučová, K.: *Otěrové částice z brzdového obložení automobilů a jejich akutní akvatická toxicita pro sladkovodní zelené řasy*. Ostrava, Vysoká škola Báňská – Technická univerzita Ostrava, Univerzitní studijní programy, 2014, Vedoucí práce: Doc. Mgr. Jana Kukutschová, Ph.D.

Bakalářská práce se zabývá experimentálním posouzením možného vlivu sedimentované frakce otěrových částic produkovaných při brzdění automobilů na kvalitu životního prostředí, zejména na růst sladkovodních zelených řas (*Desmodesmus subspicatus* a *Raphidocelis subcapitata*). Použitím skenovací elektronové a Ramanovy mikrospektroskopie byla provedena elementární a fázová analýza vzorku sedimentované frakce otěrových částic z modelového frikčního kompozitu, pro brzdové obložení osobního automobilu, získaných odběrem z komory laboratorního brzdového dynamometru. Skenovací elektronová mikroskopie vodného výluhu prokázala uvolňování nanometrických částic ze sedimentované frakce do kapalně fáze. Obě analytické metody stanovily značný heterogenní charakter vzorku otěru i vodné suspenze, což ovlivnilo lineární průběh závislosti dávka – odezva v použitém testu akutní akvatické toxicity. Na základě získaných experimentálních dat lze konstatovat, že sedimentovaná frakce otěrových částic je do jisté míry schopna interagovat s buňkami detekčních organismů, což se projevilo na inhibici růstu buněk *Raphidocelis subcapitata*. V případě buněk *Desmodesmus subspicatus* byla naopak pozorována stimulace růstu.

**Klíčová slova:** *Desmodesmus subspicatus*, *Raphidocelis subcapitata*, skenovací elektronová mikroskopie, brzdový dynamometr, frikční materiály, fenolická pryskyřice.



## **Anotation**

Kučová, K.: *Automotive brake wear particles and their acute aquatic toxicity to freshwater green algae*. Ostrava, VŠB – Technical University of Ostrava, University Study Programmes, 2014, Thesis supervisor: Doc. Mgr. Jana Kukutschová, Ph.D.

The bachelor thesis deals with an experimental evaluation of potential impact of non-airborne fraction of wear particles generated by automotive braking to the environment, especially to growth of freshwater green algae (*Desmodesmus subspicatus* a *Raphidocelis subcapitata*). Scanning electron microscopy (SEM) and Raman microspectroscopy were used to analyze elemental and phase composition of wear particles generated from a model automotive friction composite and captured from the environmental chamber of laboratory dynamometer as a settled fraction. SEM of water extract of wear particles revealed a release of nano-sized particles from the non-airborne fraction into the liquid phase. Both experimental techniques utilized showed decent heterogeneous character of wear debris and also the water extract, which could affect linear course of the dose-response relationship in the acute aquatic toxicity bioassay. Based on the obtained experimental data it can be stated that the non-airborne fraction of wear particles has a potency to interact with cells of the detection organisms, which was manifested by growth inhibition of *Raphidocelis subcapitata* cells. However, *Desmodesmus subspicatus* was observed to be stimulated in its growth.

**Keywords:** *Desmodesmus subspicatus*, *Raphidocelis subcapitata*, scanning electron microscopy, brake dynamometer, friction materials, phenolic resin.

## Seznam použitého označení

BSED	režim zpětně odražených elektronů
CNTs	uhlíkaté nanotrubice
IC <sub>x</sub>	efektivní koncentrace způsobující x%-ní odezvu organismu
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová (Chelaton 2)
EDX	energieově disperzní rentgenová spektroskopie
ETD	režim sekundárních elektronů
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (angl. International Agency for Research on Cancer)
I <sub>i</sub>	inhibice, resp. stimulace růstu daných testovacích koncentrací
SAE	Mezinárodní společnost sdružující inženýry v automobilovém průmyslu (angl. Society for Automotive Engineers)
SEM	skenovací (řádkovací) elektronový mikroskop
TEM	transmisní elektronový mikroskop
VOC	těkavé organické látky (angl. volatile organic compounds)

## Obsah:

<b>1 ÚVOD.....</b>	<b>3</b>
<b>2 TEORETICKÁ ČÁST.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Materiály pro brzdová obložení automobilů.....</b>	<b>5</b>
2.1.1 Vývoj materiálů brzdového obložení z historického hlediska.....	6
2.1.2 Charakterizace frikčních materiálů.....	7
<b>2.2 Otěrové částice z brzdových desek automobilů .....</b>	<b>9</b>
2.2.1 Metody charakterizace otěrových částic.....	10
2.2.1.1 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM).....	10
2.2.1.2 Ramanova spektroskopie .....	11
2.2.1.3 Prvková analýza otěru z brzdových destiček.....	11
<b>2.3 Environmentální rizika složek otěrových částic .....</b>	<b>14</b>
2.3.1 Fytotoxický účinek kovů a jejich oxidů na životní prostředí.....	14
2.3.2 Ekologické dopady vybraných složek frikčních kompozitů na kvalitu životního prostředí .....	15
2.3.2.1 Působení Cu a Fe na rostliny .....	15
2.3.2.2 Antimon jako karcinogenní složka frikčních materiálů.....	16
2.3.2.3 Ekologické účinky barytu ( $\text{BaSO}_4$ ) z brzdového obložení .....	17
2.3.3 Nebezpečnost ostatních složek frikčních materiálů .....	17
2.3.3.1 Fenol .....	17
2.3.3.2 Styren ( $\text{C}_8\text{H}_8$ ) .....	18
2.3.3.3 Oxid chromitý ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ), saze a nitrily .....	18
<b>2.4 Akutní akvatická toxicita pro sladkovodní řasy .....</b>	<b>19</b>
2.4.1 Oddělení Chlorophyta.....	20
2.4.2 Desmodesmus subspicatus (Scenedesmus subspicatus).....	20
2.4.3 Raphidocelis subcapitata.....	21

<b>3</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>22</b>
3.1.1	Modelová brzdová deska .....	22
3.1.2	Charakterizace odebraných částic sedimentované frakce z dynamometru 23	
<b>3.2</b>	<b>Testy akutní akvatické toxicity .....</b>	<b>25</b>
3.2.1	Pracovní podmínky testu, potřebné pomůcky, přístroje a chemikálie ....	25
3.2.2	Pracovní postup.....	26
3.2.2.1	Příprava standardního živého roztoku .....	26
3.2.2.2	Provedení základního testu .....	27
3.2.2.3	Podmínky účinnosti testu.....	28
3.2.2.4	Počítání v Bürkerově komůrce .....	28
3.2.2.5	Zpracování výsledků testu .....	29
3.2.2.6	Příprava suspenzí pro analýzu skenujícím elektronovým mikroskopem 29	
<b>3.3</b>	<b>Výsledky a diskuze.....</b>	<b>30</b>
3.3.1	Charakterizace otěrových částic .....	30
3.3.2	Akutní akvatická toxicita .....	36
<b>4</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>POUŽITÁ LITERATURA.....</b>	<b>42</b>

# 1 Úvod

Pro současnou dobu je přívlastek „nano“ nejen módním trendem, ale také symbolem vědy a techniky zasahujícím do mnoha vědních oborů (např. elektronika, robotika, medicína, ale také automobilový, stavební, potravinářský, textilní průmysl a mnoho dalších). Avšak aplikace nanomateriálů s sebou přinášejí, vedle pozitivních účinků také možné negativní, které v rámci ochrany životního prostředí a lidského zdraví nelze opomíjet. Přičemž cílená výroba nanočástic není jejich jediným zdrojem. Ve formě uvolňujících se meziproduktů či zplodin mohou vznikat také např. během spalovacích reakcí (hoření, svařování, broušení, atd.) nebo důsledkem nespalovacích procesů v dopravě (brzdění automobilů) [1].

Automobil se ve vyspělých zemích během posledních desetiletí stal běžnou součástí každé domácnosti. V souvislosti s tím neustále přibývá dopravních prostředků, což přispívá ke zhoršené kvalitě životního prostředí nejen ve městech. Zplodiny vznikající při spalování pohonných hmot nebo otěrem pneumatik a brzd mohou potenciálně ovlivňovat přirozené procesy probíhající v živých organismech.

Tato bakalářská práce se dělí na teoretickou a praktickou část. Teoretickou část tvoří literární rešerše poskytující informace o otěrových částicích (včetně jejich nanometrických rozměrů), které se uvolňují při brzděném procesu automobilů společně s popisem jejich možných rizik pro životní prostředí, konkrétně pak pro zástupce sladkovodních zelených řas (*Desmodesmus subspicatus*, *Raphidocelis subcapitata*). Hlavní cíl praktické části práce spočíval v experimentálním prokázání možných environmentálních<sup>1</sup> rizik otěrových částic z brzdového obložení automobilů za pomoci vybraných testů akutní akvatické toxicity.

---

<sup>1</sup> Environmentální účinek: jev týkající se životního prostředí.

## 2 Teoretická část

Automobilová doprava je spojena jak se spalovacími, tak i nespalovacími procesy, které probíhají během provozu vozidel a mohou se podílet na znečištění všech složek životního prostředí. V minulosti byla větší pozornost věnována spalovacím procesům. V posledních letech se vědecké práce začínají zabývat studiem zdrojů znečištění prostředí v souvislosti s nespalovacími procesy (např. frikční procesy generující otěr materiálů brzdového obložení automobilů nebo pneumatik) [2].

Kotoučové brzdové systémy každého automobilu jsou tvořeny třemi základními složkami: třmenem, rotujícím litinovým kotoučem a párem brzdových desek, ty jsou založeny na ocelové desce, na níž jsou uchyceny frikční kompozity. Tyto systémy představují významný bezpečnostní prvek každého automobilu. Nejprísnejší požadavky jsou výrobci kladeny na spolehlivost a účinnost vztahující se k frikčně otěrovým vlastnostem těchto systémů [3]. Frikční kompozity každého automobilu patří ve skutečnosti ke spotřebnímu zboží a po několika tisíci najetých kilometrech dojde k jejich opotřebení a nutností je vyměnit za zcela nové [4]. Brzděním dochází k opotřebení frikčního materiálu brzdových desek, jehož důsledkem je uvolňování otěrových částic do všech složek životního prostředí. Otěrové částice se mohou lišit ve výsledné morfologii, velikosti, samotným chemickým či fázovým složením a dosahovat až nanometrických rozměrů. Nanometrické částice díky své velikosti mohou setrvávat po dlouhou dobu suspendovány v ovzduší, popřípadě být v důsledku proudění vzduchu unášeny i na značné vzdálenosti od zdroje, nebo pronikat do půd i povrchových vod [5].

Vedle kvality, účinnosti a spolehlivosti kompozitů používaných pro brzdové systémy se začínají výrobci těchto materiálů zajímat také o ekologickou šetrnost produkovaných materiálů a o jejich možné dopady na lidské zdraví. Výrobci v mnoha případech jako složky frikčních kompozitů volí materiály, které jsou pro svou účinnost ve výsledném kompozitu lety ověřeny [4]. Přítomnost rizikových složek se začala prvně řešit v případě azbestu, který byl nakonec pro svá zdravotní rizika k použití do materiálů pro brzdová obložení automobilů zakázán [6]. Avšak existuje řada dalších složek, které jsou v současnosti používány do směsí pro přípravu frikčních kompozitů pro brzdové desky automobilů, u nichž existuje jistý reálný předpoklad, že se mohou podílet na celkovém toxickém charakteru až už frikčních kompozitů nebo generovaného otěru. Jedná se zejména o sloučeniny kovů jako je Cu, Sb, Mo, ale také Fe anebo organické sloučeniny

jako například fenolformaldehydová pryskyřice, plnící funkci pojiva ve výsledném kompozitu [7]. Pro vhodný výběr takovýchto materiálů ze strany výrobců je nezbytně nutné uvědomovat si, že během brzdného procesu působí na brzdové desky vysoké teplo generované při přeměně kinetické energie na chemickou a rovněž vysoké tlaky, kterých je při tření dosahováno. Vlivem těchto faktorů dochází k přeměnám vstupních složek frikčních kompozitů na složky o novém chemickém a fázovém složení, morfologii a rovněž možné toxicitě [5]. Pozornost by se proto měla, v rámci hodnocení ekologické šetrnosti frikčních materiálů, vztahovat především na složení vzniklých otěrových částic a jejich možné účinky na životní prostředí a zdraví člověka.

## **2.1 Materiály pro brzdová obložení automobilů**

V současnosti se v osobních a nákladních automobilech využívají dva typy brzdových systémů - kotoučové nebo bubnové. Kotoučové brzdy se obecně vyznačují lepším odvodem tepla, vyšší výkonností a menší hmotností, než bubnové brzdové systémy. Pro konstrukci brzdových systémů nových automobilů se uplatňují brzdy kotoučové a od aplikace bubnových brzd se pomalu upouští [8, 9].

Nezbytnou součástí kotoučového brzdového systému tvoří pár brzdových desek a třmen. Role tohoto páru spočívá ve vytvoření tlaku na rotující brzdový kotouč, čímž dochází k jeho zpomalení [10]. Každá brzdová deska se skládá z tzv. pakny (kovová opěrná deska) a nalepeného/uchyceného kompozitu (frikční materiál). Tvar pakny a složení frikčního kompozitu je charakteristikou daného typu, třídy a modelu vozidla. Třením mezi pevně ukotveným brzdovým obložením a rotujícím kotoučem se vytváří brzdná síla. Brzdění vozidel je doprovázeno přeměnou kinetické energie, jejíž část se mění ve vznikající teplo. Tento proces poté doprovází vznik a uvolňování otěrových částic a dalších emisí do prostředí [11].

Podle předem požadovaného charakteru aplikace mohou výrobci frikčních kompozitů volit jejich parametry tak, aby se například stávaly odolnějšími vůči vyšším teplotám (využíváno u sportovních a závodních automobilů) nebo podle tvrdosti ovlivňovat jejich životnost (měkčí desky-náchylné ke dřívějšímu opotřebení - sportovní automobily). Pro vozidla obvyklého silničního provozu se volí tvrdší desky a teploty, kterým v těchto případech odolávají, se pohybují kolem 800°C (v případě sportovních automobilů je to lokálně až 1200°C). Volbou vstupních složek a jejich optimálních poměrů tak mohou

výrobci ovlivňovat a regulovat vlastnosti a zvolené parametry vyráběných brzdových desek [9, 10].

### ***2.1.1 Vývoj materiálů brzdového obložení z historického hlediska***

Složení materiálů, které se používaly/používají pro brzdová obložení automobilů prošlo jistým vývojem, podle toho jak se vyvíjely požadavky na účinnost těchto materiálů, ale také, zejména v poslední době, podle jejich možných dopadů na životní prostředí a lidské zdraví. V 50. letech 20. století zaznamenalo mnoho průmyslových odvětví (stavební, textilní, automobilový průmysl, atd.) nástup nového materiálu k řešení ochrany vůči vysokým teplotám - azbest. Promítnulo se to také ve složení brzdových obložení automobilů, kde azbest tvořil jednu z jeho složek (vláknou výztuž). Nikdo se však nezabýval možnou škodlivostí tohoto materiálu až do doby, kdy se objevily zdravotní problémy nejen u zaměstnanců přímo manipulujících s azbestovými materiály, ale také u osob pohybujících se v blízkosti továren pro jeho výrobu, kde bylo dosahováno vysokých koncentrací azbestových vláken v ovzduší. Na počátku 90. let bylo zjištěno, že azbest vyvolává závažné zdravotní problémy tím, že v podobě vláknitých struktur malých rozměrů může pronikat až do plic a způsobit azbestózu (zaprášení plic azbestem) nebo rakovinu plic [6]. Od této chvíle byla započata zcela nová éra intenzivního pátrání po materiálech, které by tuto složku mohly nahradit. Pro automobilový průmysl pak byla k datu 1. 1. 1993 výroba azbestových brzdových desek zcela zakázána a novým materiálem se stala tzv. kovokeramika, ta svými vlastnostmi azbestové materiály dokonce předčila [6, 12]. V současnosti je v některých státech v rámci USA pro výrobu frikčních kompozitů striktně regulováno např. i používání Cu ve formě složek zajišťujících odvod tepla při frikčních procesech. Existuje totiž opodstatněná obava, že imise na bázi Cu mohou decimovat populace některých vodních živočichů, např. lososa [13].



### 2.1.2 Charakterizace frikčních materiálů

Frikční kompozity sloužící jako brzdové desky mohou obsahovat až několik desítek složek, jejich přesné složení a poměry jsou však know-how každého výrobce, a proto nejsou tyto informace zveřejňovány. Podíl jednotlivých komponent v jejich struktuře udává výsledné vlastnosti daného brzdového obložení. Obecně vzato se tyto materiály skládají z pěti hlavních skupin [14]:

#### 1) Vláknenná výztuž:

Pro zvýšení mechanické pevnosti kompozitů se využívá přítomnost vláknenné výztuže. V současné době se pro výrobu brzdových desek uplatňují bezazbestové materiály (viz kap. 2.1.1), u kterých je pevnost zajišťována různými kovy ve formě vláken nebo špon, uhlíkem (především ve formě grafitu), Kevlarem nebo Twaronem (p-aramidová vlákna<sup>2</sup>), mezi méně využívané vláknenné složky patří minerální nebo keramická vlákna. Z celkového brzdového obložení zaujímají tyto složky zhruba 6 – 35 obj.%.

#### 2) Abraziva:

Hlavní princip působení abraziv spočívá v regulaci frikčního procesu a udržení čistoty mezi kontaktními plochami (odstranění povlaků oxidů, které se mohou tvořit na povrchu kotouče). Reprezentují až desetinu materiálového složení brzdového obložení. Jako abraziva bývají nejčastěji využívány následující materiály:  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2$ , oxidy Fe, SiC nebo  $\text{ZrSiO}_4$  [15].

#### 3) Maziva (tuhé lubrikanty):

Stabilizaci frikčních vlastností, především při vysokých teplotách, zajišťují maziva. Tuto funkci plní například grafit nebo sulfidy kovů (např.  $\text{Sb}_2\text{S}_3$  (sulfid antimonitý)) a představují 5 - 29 obj. % z celkového frikčního materiálu.

#### 4) Pojiva:

Cílem pojiv je spojení jednotlivých složek připraveného frikčního kompozitu. V automobilovém průmyslu se jako pojiva pro frikční materiály brzd využívají především fenol-formaldehydové pryskyřice, jejichž množství v těchto materiálech bývá v rozmezí 20 - 40 obj.%.

---

<sup>2</sup> P-aramidová vlákna: vlákna s mimořádně vysokou pevností a tepelnou odolností.

### 5) Plniva:

Nastavení správného poměru jednotlivých složek a snížení výrobních nákladů mají za úkol plniva, tj. látky jako jsou například baryt ( $\text{BaSO}_4$ ), kalcit ( $\text{CaCO}_3$ ) nebo silikátové minerály (slídy). Jejich kvantita ve frikčním materiálu je vyjádřena intervalem 15 – 70 obj.%. Jedná se většinou o cenově nenáročné materiály, které mají za úkol přidat na objemu výsledného frikčního kompozitu.

Hlavním požadavkem dnešních technologií pro výrobu frikčních materiálů je jejich kvalitní zhotovení se zaručenou spolehlivostí frikčních vlastností. Poměr uvedených složek ve struktuře frikčního materiálu vede k rozdělení frikčních materiálů na tři základní typy (viz tabulka 1). Míra opotřebení obložení brzdových desek se odvíjí jednak od složení materiálů použitých k jejich výrobě, ale také na způsobu jízdy, kterému jsou brzdy vystaveny. To vše má vliv na výsledné fyzikální i chemické vlastnosti částic uvolňujících se při brzdění automobilů [15].

**Tabulka 1:** Hlavní kategorické uspořádání brzdového obložení v závislosti na poměru jeho složek [14, 15].

Kategorie	Složení
Semi-metalické	Převážně kovové (ocelová vlákna/špony, vlákna na bázi mědi, atd.)
Nízko-metalické	Směs organických a kovových (30-65%) složek
Bezazbestové organické	Z velké části organické (minerální vlákna, grafit, pryž, atd.)

Současné technologie nabízí několik možných variant, jak nahradit běžně dostupné frikční materiály a to jednak z hlediska vylepšení stávajících vlastností, ale také z pohledu jejich vyšší ekologické šetrnosti. Podle [16] bylo testováno použití uhlíkatých nanotrubiček (CNTs) jako nového typu vlákenné výztuže, kdy byl prokázán jejich pozitivní dopad v důsledku zvýšení frikční stability kompozitu při vysokých teplotách a nárůst jeho odolnosti proti otěru. U těchto složek však existují jistá znepokojující rizika, převážně z hlediska jejich možné inhalační toxicity. Z pohledu vývoje ekologicky šetrných materiálů byly navrženy dva typy frikčních materiálů, které neobsahují kovová ani p-aramidová vlákna, ale jde o kombinaci přírodních materiálů (jutová vlákna s drcenými slupkami lískových ořechů). Využití těchto materiálů je v rozmezí jízdních kol, skútrů, malých motocyklů, ale také menších osobních automobilů [17].

## 2.2 Otěrové částice z brzdových desek automobilů

Brzdění motorových vozidel je jedním z hlavních důvodů, proč dochází k tvorbě otěrových částic. Vyšší produkci těchto částic vyvolávají zpravidla následující příčiny [4]:

- nedostačující kvalita materiálu brzdového obložení nebo špatná konstrukce brzdového kotouče (nesplňují požadavky na ně kladené, není správná intenzita oslabování vrstvy obložení),
- dlouhá doba používání brzdových desek,
- příliš časté používání brzd a především pak jejich přetížení či používání při vysokých teplotách.

Na druhou stranu lze na samotný proces vzniku otěru těchto materiálů nahlížet jako na jev, který je z pohledu frikční účinnosti žádoucí a nezbytný. K tomu, aby frikční kompozity správně fungovaly je nezbytné, aby docházelo k neustálému obnovování frikční vrstvy (angl. tzv. recovery). Toto obnovování je zajištěno právě také odstraněním staré frikční vrstvy ve formě otěrových částic, které tak umožní ustavení frikční vrstvy nové [4].

Během brzdného procesu se mechanickým otěrem produkují prachové částice větších rozměrů (velikost nad 10  $\mu\text{m}$ ). Menší frakce (submikronová velikost, až do nano-rozměrů (pod 100 nm)) pak vznikají důsledkem chemických reakcí (vypařování, kondenzace), tj. oxidativním otěrem. Při zatížení brzd se teplota brzdových desek a litinového kotouče může nezřídka zvýšit na 600-700°C, což umožňuje uvolnění některých kovových složek z povrchu brzdy a při nižších teplotách (už cca od 350°C) hlavně degradaci méně tepelně stabilních složek, např. fenolické pryskyřice plnící funkci pojiva [2]. Uvolnění částic velmi malých rozměrů (submikronových a nano) dokazují publikované studie [5, 18, 19], které byly provedeny v Centru nanotechnologií VŠB-TUO, kdy přítomnost nanometrických částic v otěrech z brzdového obložení automobilů byla prokázána pomocí simulace běžného provozu na laboratorním brzdovém dynamometru [20]. Další studie prokázala, že tyto nanometrické frakce, přítomné v sedimentované frakci otěru, mohou být kontaktem s vodou uvolněny do vodního prostředí. Nanometrické částice uvolněné z otěru brzdových desek se proto mohou nemalou měrou podílet na znečištění půd a také povrchových vod [21].

Menší osobní automobily celkově produkují mezi 3,2-8,8 mg/km otěru v závislosti na typu použitého frikčního materiálu. Každým rokem se v Evropě z brzdového obložení při frikčním procesu uvolní 26 tis. tun otěrových částic [22]. Jejich průměrná velikost byla podle [23] určena na 6  $\mu\text{m}$ . Ve stejné studii bylo zjištěno, že 35% celkového otěru brzdového obložení se uvolňuje do vzduchu, kdežto jeho zbylá část příspěvkem své hmotnosti sedimentuje na vozovce.

### ***2.2.1 Metody charakterizace otěrových částic***

Jednou z možných metod pro získání potřebných informací o velikosti přítomných částic z brzdového procesu automobilů v odebraném vzorku je provádět rozbor částic pomocí skenovacího (řádovacího) elektronového mikroskopu (SEM), často doplněného o EDX (energieově disperzní rentgenový spektrometr; kde je k excitaci vnitřních elektronů využito rtg-záření). Pro charakterizaci otěrových částic lze využít i kombinace dalších analytických metod jako např. Ramanova spektroskopie, TEM (transmisní elektronová mikroskopie), Mössbauerova spektroskopie nebo FTIR (infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací) [5].

#### ***2.2.1.1 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)***

Skenovací (rastrovací neboli řádovací) elektronová mikroskopie je jednou z hojně využívaných mikroskopických technik, díky níž lze zkoumat povrch vzorků mnohem detailněji (rozlišovací schopnost řádově až  $10^{-3}$  nm), než prostřednictvím klasických optických mikroskopů (rozlišení pouhých 200 nm). Pro své specifické vlastnosti se zde zdrojem záření stávají elektrony [1]. Jejich vlnová délka je řádově  $10^5$  krát menší, než tomu bylo u světla pro lidské oko viditelné oblasti (přibližně 390-790 nm). Konstrukčně je SEM dále složen např. z elektromagnetických čoček, fluorescenčního stínítka a rastrovací (skenující) sondy, ta „řádek po řádku“ v těsné blízkosti vzorku studuje jeho povrch („ostrost“ sondy a její vzdálenost od vzorku určuje výsledné rozlišení). SEM má dva základní detekční režimy měření a to prostřednictvím sekundárních a zpětně odražených elektronů. Nekovové vzorky musí být před počátkem analýzy pokryty tenkou vrstvou kovu (vhodná volba, aby neovlivnil výslednou analýzu). Pomocí přídavných počítačových softwarů vyhodnocujeme i chemické složení povrchu vzorku [24]. Skenovací mikroskopy představují celou řadu konkrétních druhů. Na poli nanotechnologického výzkumu se většinou uplatňují jeho dva speciální typy, kterými jsou tunelový mikroskop a mikroskop atomárních sil [1].

### 2.2.1.2 Ramanova spektroskopie

Ramanova spektroskopie se řadí k početné skupině spektrálních metod strukturní analýzy. Metoda pozoruje změny vibračních stavů molekuly. Jde o nedestruktivní metodu, pro kterou není potřeba žádná výrazná úprava vzorku a lze jej analyzovat ve všech skupenských stavech (pevné, kapalné i plynné vzorky) [25]. Základ Ramanovy spektroskopie spočívá v Ramanově jevu, tím je souhrnně označován neelastický rozptyl (Stokesův a anti-Stokesův), kdy je energie dopadajícího fotonu odlišná od té vyzářené [26]. Jako užitečný zdroj záření pro tento typ mikroskopie se po Hg lampách prokázal laser. Závažný problém v podobě intenzity elastického rozptylu (mnohem vyšší, než intenzita neelastického rozptylu) byl vyřešen pomocí víceetapového monochromátoru [27]. Ve výsledku získáváme příslušná spektra v podobě grafické závislosti vlnočty na intenzitě signálu, ty jsou do této podoby vytvořeny pomocí počítačového softwaru [26]. Nutnou podmínkou detekce dané vibrace molekuly v Ramanově spektru je změna polarizace molekuly [27]. Aplikace Ramanovy spektroskopie je velice široká a zasahuje tak přes chemický průmysl, farmacii, lékařství, až do mineralogie či biologie [25].

### 2.2.1.3 Prvková analýza otěru z brzdových destiček

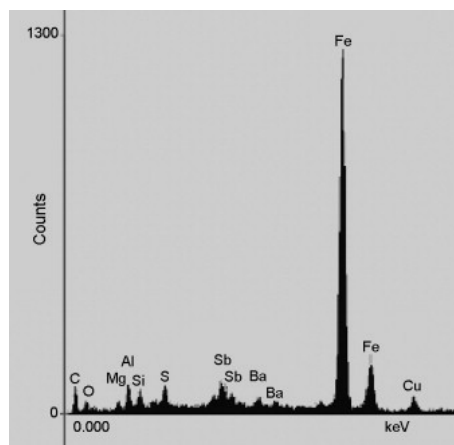
Příčina rozdílných vlastností otěrových částic spočívá ve složení frikčního materiálu, změně teploty, tlaku, typu brzdy, rychlosti, hmotnosti a stavu vozidla. Tyto parametry jsou pro jednotlivá měření velmi důležité, protože každá jejich výchylka s sebou přináší rozdíly ve výsledné prvkové analýze otěru (odlišný bývá počet, velikost a typ částic) [28].

Složení a vlastnosti otěru z komerčně dostupných brzdových desek (americké, evropské i japonské trhy) byly analyzovány v několika studiích [5, 18, 21]. Např. získané výsledky z charakterizace otěrových částic z laboratorní simulace frikčních procesů realizovaných použitím brzdového dynamometru, který simuloval podmínky městského provozu, poukazují na charakterizaci reálně vznikajících částic v silniční dopravě. S použitím laboratorní simulace brzdného procesu na dynamometru a generování částic tímto způsobem, se rovněž zamezí skutečnosti, že by odebrané částice mohly vznikat v důsledku otěru z pneumatik, cest, popř. jiných průmyslových zdrojů jako by tomu bylo v případě odběru vzorku přímo z dopravních komunikací *in situ*<sup>3</sup> [5]. Na obr. 1 je uve-

---

<sup>3</sup> In situ: z původního místa.

dena ukázka prvkového složení získaných otěrových částic pomocí metody EDX (rozšířená metoda SEM), která vymezuje škálu přítomných prvků: C, O, Mg, Al, Si, S, Sb, Ba, Fe, a Cu [18]. V závěru práce [5], která se zabývala stejnou problematikou, byla prokázána přítomnost především Fe, Ba, Cu, Al, Zn, Sn a Pb v odebraných vzorcích otěrů.



**Obr. 1:** Ukázka záznamu prvkové analýzy celkové plochy sedimentovaných otěrových částic metodou EDX [18].

Vědci v několika studiích [2, 29] sledovali chemické složení na vzorcích otěrových částic odebraných v rámci reálného provozu (teflonový sáček umístěný na zadním bubnu automobilu) a prokázali značný obsah Fe, Cu, Ba a Sb. Dále byly navíc prokázány jejich toxické účinky, kterými se tyto otěry podílejí na zvyšování zánětlivých reakcí plicních buněk a mohou vést k nárůstu morbidity, která může potenciálně pokročit až do stádia úmrtnosti [29]. „Pin-on-disk testy“<sup>4</sup> komerčních brzdových desek nákladních automobilů v kontrolovaných laboratorních podmínkách [30] rovněž poukazují na vysoký obsah Fe, C, Si, Al, Mo a S.

V rámci snah o orientační kvalifikaci produkovaného množství otěrových částic na automobil bylo stanoveno průměrné množství otěrových částic frakce PM<sub>10</sub> (částice o velikosti pod hranicí 10 µm) v rozmezí 0-80 mg/km a množství částic PM<sub>2,5</sub> (částice menší než 2,5 µm) v rozsahu 0-5 mg/km pro osobní automobil nižší střední třídy. Toto množství otěrových částic produkovaných nákladními automobily bylo stanoveno na zhruba trojnásobné množství oproti osobním automobilům, tj 0-15 mg/km [31]. Koncentrační rozsahy uvolněných částic se v některých případech liší až o několik řádů,

---

<sup>4</sup> Pin-on-disk testy: při těchto testech jsou malé vzorky otírány o rotující disk (ve srovnání s dynamometrem je vše bráno v v miniaturní podobě).

jejich složení však zůstává celkem shodné. Charakteristicky jsou brzdové desky a jejich otěry složeny z uvedených prvků v tabulce 2 (jejich vyjádřený obsah v celkovém materiálu je pouze ilustrativní) [15].

**Tabulka 2:** Kvantitativní obsah složek na bázi kovů v jednom z typů komerčního frikčního kompozitu a v jeho sedimentované části otěru [15].

Prvek	Brzdové obložení	Otěr	Prvek	Brzdové obložení	Otěr
	(mg/kg, není-li uvedeno jinak)			(mg/kg, není-li uvedeno jinak)	
Al	3765	330-2500	Mg	6140	83
As	< 2-18	< 2-11	Mn	181-3220	620-5640
Ba	2638	74,4-5900	Mo	0,4-215	5-740
Ca	14,3	920-8600	Na	15,4	80
Cd	< 1-41,4	< 0,06-2,6	Ni	3,6-660	80-730
Co	6,4-45,8	12-42,4	Pb	1,3-119	4-1290
Cr	< 10-411	135-1320	Sb	0,07-201	4-16,9
Cu	11-234	39,4-70	Se	< 1-15	4,5-115
Fe (%)	1,2-63,7	1,1-53,7	Sr	81,4	300-990
K	857	190-5100	Zn	25-188	27,3-120
Li	55,6	Neuváděno			

## 2.3 Environmentální rizika složek otěrových částic

Uvolňování otěrových částic z frikčních materiálů pro brzdové desky automobilů se podílí na poklesu kvality životního prostředí a rovněž na vytváření rizikových podmínek pro životní funkce organismů. Proto následující kapitola poukazuje na řadu experimentálních studií, ve kterých byly pozorovány takovéto účinky otěrových částic a jejich vybraných složek z frikčních kompozitů pro brzdová obložení automobilů na jednotlivé druhy organismů.

### 2.3.1 Fytotoxický účinek kovů a jejich oxidů na životní prostředí

Fytotoxicita<sup>5</sup> je jedním z mnoha vlastností toxikantu, podle kterých může být hodnocena kvalita životního prostředí. Složky na bázi kovů, uvolňující se při brzdných procesech automobilů, mohou kontaminovat půdy a půdní vody, a tudíž i toxicky působit na určité druhy rostlin, které jsou vnímavé vůči působení daných sloučenin kovů. Jejich přítomnost v ekosystému pak může způsobit negativní procesy v průběhu života rostlin. Stupeň fytotoxicity lze určit například na základě změny kořenové elongace<sup>6</sup>, což spočívá v pozorování vývoje a především dovršené velikosti kořene konkrétního typu rostliny expozičním působením testovaných látek [32]. Obsah sloučenin kovů, jako Cu, Zn a Pb, se podle [33] stává hlavní příčinou negativních dopadů na životní prostředí, především pak pro rostliny nebo zdraví zvířat i lidí.

Vědecká práce [34] prokázala, že přítomnost sloučenin na bázi Zn, Mn a Cd má v půdě, na zde umístěné sazenice (sója (*Glycine max*) a pět dřevin: bříza šedá (*Betula pubulifolia*), dub košíčkatý (*Quercus prinus*), dub červený (*Quercus rubra*), borovice vejmutovka (*Pinus strobus*) a javor červený (*Acer rubrum*)), vysoce fytotoxický charakter. Zn má, v exponovaných rostlinách, tendenci akumulovat se spíše v jejich kořenech, než v listech, čímž narušuje růst kořenů a omezuje tak přirozený vývoj celé rostliny. Cd se vyznačuje poměrně vyšším stupněm toxicity než Zn, což může být dáno vyšší mobilitou kadmia v prostředí, ale zato se v přírodě nevyskytuje v tak velké koncentraci v jednotlivých složkách prostředí. Nejmenší negativní účinky byly pro použité druhy rostlin pozorovány po expozici<sup>7</sup> sloučenin Mn [34].

---

<sup>5</sup> Fytotoxicita: vlastnost určité látky nebo směsi látek, která má za následek negativní vliv na životní procesy rostlin.

<sup>6</sup> Elongace: prodloužení, růst.

<sup>7</sup> Expozice: doba působení určité látky.



Účinek nanočástic následujících kovů a jejich oxidů, tj. ZnO, Ni a TiO<sub>2</sub> (ve studii autoři neuvádějí, zda se jedná o rutil či anatas, pouze, že se jedná o komerčně dostupné nanočástice, velikostně menší než 21 nm) především pak jejich působení na řeřichu setou (*Lepidium sativum*) se stalo cílem studie [35]. Míra fytotoxicity je určena řadou faktorů, které působí v úzkém propojení systému nanočástice-půda-rostlina a to např. typologií půdy, interakce jednotlivých nanočástic (mezi sebou nebo vzájemně mezi složkami půdy), vliv teploty nebo světla, aj. Odezva vzájemných interakcí mezi nanočásticemi závisí především na charakteru daných prvků a jejich chemické reaktivitě k jednotlivým složkám půdy. Výsledky studie lze zjednodušeně (dle míry toxicity daných nanočástic) shrnout do řady následujícího pořadí: ZnO>Ni>TiO<sub>2</sub> [35, 36].

Experimentálně byl sledován také dopad nanočástic Al, Zn, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, ZnO na proces klíčení semen a růst kořenů následujících druhů rostlin: řepka olejná (*Brassica napus*), ředkev setá (*Raphanus sativus*), lilek vytrvalý (*Lolium perenne*), salát setý (*Lactuca sativa*), kukuřice setá (*Zea mays*) a okurka setá (*Cucumis sativus*). Výsledné projevy byly určeny podle testu elongace kořene rostlin po 5 denní expozici. Pro nanoAl nebyla evidována vysoká škodlivost. Nicméně v případě nanoAl<sub>2</sub>O<sub>3</sub> se fytotoxicita projevovala ve značné míře, když se prodloužení kořene kukuřice snížilo o 35%. Nejvyšší projev inhibice klíčivosti kořene nejen u kukuřice, ale i ostatních exponovaných druhů rostlin, byl zaznamenán u nanočástic Zn a ZnO, což by bylo hypoteticky možné přisuzovat vyšší rozpustnosti a biologické dostupnosti iontu zinku [37].

### **2.3.2 Ekologické dopady vybraných složek frikčních kompozitů na kvalitu životního prostředí**

Vzhledem ke skutečnosti, že dochází k uvolňování otěrových částic z brzd do životního prostředí, lze předpokládat expozici rostlin jednotlivým složkám, které jsou v otěrových částicích přítomny. V následujících podkapitolách budou diskutovány možné účinky vybraných kovů/jejich sloučenin a některých dalších složek, přítomných v otěru, na rostlinné organismy

#### **2.3.2.1 Působení Cu a Fe na rostliny**

Studie [38] sledovala účinky otěrových částic z brzd na vodní kapradinu (*Salvinia molesta*), která se řadí do skupiny makroskopických vodních rostlin a představuje volně plovoucí rostlinu sladkovodního biotopu. Pro účely zkoumání vlivu složek na bázi kovů (především Cu, Fe) z otěrů brzdového obložení automobilů byla tato rostlina pěstována

v destilované vodě (bez a s přidavkem otěrových částic pro následné srovnání). Otěrové částice pocházely z frikčních materiálů s nízkým obsahem kovů (angl. tzv. low-metallic) a odběr otěrových částic probíhal za použití laboratorního brzdového dynamometru. Testy toxicity probíhaly po dobu dvaceti dnů, přičemž celkový stav růstu byl sledován ve čtyřdenních intervalech. Přítomnost Cu a Fe v destilované vodě měla za následek množení a růst vodní kapradiny. Získané výsledky lze interpretovat tak, že kapradina *Salvinia molesta* a jí podobné vodní rostliny mohou interagovat s Cu a Fe, v důsledku čehož dochází k lepším schopnostem jejich růstu a tyto kovy, resp. jejich sloučeniny vykazují pro dané rostliny, za daných podmínek testu spíše stimulační účinky, než negativní dopady na jejich životní projevy. Takové odezvy, které vyvolávaly kovy a jejich sloučeniny použité ve výše uvedeném testu, by však mohly mít, stejně jako toxické projevy, v dlouhodobějším kontextu za následek narušení kvality a stability sladkovodních společenstev [38].

#### 2.3.2.2 Antimon jako karcinogenní složka frikčních materiálů

Jako maziva do frikčních materiálů pro brzdová obložení automobilů se v současné době stále používá Sb ve formě  $\text{Sb}_2\text{S}_3$ . Mnoho studií však naznačuje jistou rizikovost sloučenin antimonu pro různé živé organismy. Toxicita sloučenin Sb je závislá na jejich rozpustnosti a mocenství, např.  $\text{Sb}^{\text{III}}$  je více škodlivý, než  $\text{Sb}^{\text{V}}$ . Experimentálně lze ověřit, že  $\text{Sb}_2\text{S}_3$  se během frikčních procesů probíhajících při brzdění automobilů může přeměňovat na oxid  $\text{Sb}_2\text{O}_5$  a jeho přítomnost v otěrech byla sledována v pracích [39, 40].

Přítomnost  $\text{Sb}_2\text{S}_3$  a jeho následná přeměna na oxidy může představovat potenciální hrozbu vzniku nádorových onemocnění u živočichů při inhalaci částic této látky např. z brzdového otěru, protože dle IARC<sup>8</sup> jsou tyto látky pro člověka potenciálně karcinogenní [41]. Pro průmyslové aplikace se pomalu začínají nacházet jeho potenciální náhrady a to např. kovy méně toxické pro člověka i životní prostředí (Zn, Mg nebo Mn) nebo přírodní vlákna (např. len nebo celulóza), rostlinné pryskyřice, apod. [39]. Výrobce automobilových bezpečnostních systému již vyvinuli brzdové desky bez Sb a ty dokonce možnosti původních desek překonávají (snížená brzdná dráha, dlouhodobá životnost, atd.) [41].

---

<sup>8</sup> IARC= International Agency for Research on Cancer -Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny.

### 2.3.2.3 Ekologické účinky barytu ( $\text{BaSO}_4$ ) z brzdového obložení

Problematika emisí barytu ( $\text{BaSO}_4$ , síran barnatý) ze silniční dopravy je řešena jen v malé části studií, které se zaměřují na účinky otěru z brzdového obložení. Je to dáno také tím, že  $\text{BaSO}_4$  je nerozpustná inertní látka, a proto svým příspěvkem v ekosystému nezpůsobuje významná rizika. Je však známo, že v půdních ekosystémech dochází k anaerobní redukci síranů, způsobené specifickými půdními bakteriemi. Tyto mikroorganismy tak dopomáhají k přeměnám přítomných síranů na příslušné sulfidy. V případě barytu může být tímto procesem pozměněna mobilita baria a tím i jeho biologická dostupnost. Jeho ionty  $\text{Ba}^{2+}$  jsou v porovnání s omezeně rozpustným  $\text{BaSO}_4$  mnohem reaktivnější, čímž se mohou podílet na toxických účincích pro živé organismy. Dle jisté studie [21] jsou kationty  $\text{Ba}^{2+}$  toxické pro bakterie, houby, mechy a řasy, což může být důsledkem nepříznivých vlivů například na celkovou úrodnost půdy a mnoha dalších ekologických dopadů [21].

### 2.3.3 *Nebezpečnost ostatních složek frikčních materiálů*

V této podkapitole jsou uvedeny vlastnosti dalších vybraných surovin používaných jako frikční materiály brzdových systémů automobilů bez jejich experimentálně potvrzených účinků (pouze teoretické). Komerčně využívané složky brzdového obložení mohou mít odlišnou chemickou strukturu, tudíž i jejich dopad na životní prostředí může být odlišné povahy, než která zde bude uvedena [6].

#### 2.3.3.1 Fenol

Ve frikčních materiálech je fenol využíván jako nejběžnější pojivo ve formě fenolformaldehydové pryskyřice. Jeho obecná strukturní charakterizace je tvořena aromatickým jádrem, na které je navázána skupina – OH. Jde o látku velmi dobře se rozpouštějící ve vodě, se kterou vytváří (i při nízké koncentraci) především pro člověka jedovaté směsi [6, 42]. Své nižší potenciální riziko představuje rovněž pro vodní organismy (především ryby). Těmito účinky na životní prostředí se fenol řadí do skupiny těkavých organických látek (VOC). V některých testech akvatické toxicity je fenol používán jako standard (např. bakteriální bioluminiscenční test na *Vibrio fischeri*). Jeho proniknutí do lidského těla může být uskutečněno např. konzumací kontaminovaných potravin nebo vody, ale také kontaktem s pokožkou či vdechnutím. Fenol ve vzduchu ani půdě nesetr-

vává dlouho dobu (poločas rozpadu-zhruba 1 den), avšak ve vodě se tyto vlastnosti značně liší a je zde schopen přežít až 9 dní [42].

### 2.3.3.2 *Styren ( $C_8H_8$ )*

Ekvivalentním označením styrenu je fenyleth(yl)en a uplatňuje se opět jako pojivo frikčních materiálů brzdových destiček. V organických látkách je dobře rozpustný, ale ve vodě méně, než fenol a stejně jako on patří do skupiny VOC. Může se vyskytovat nejen v automobilovém průmyslu, ale také cigaretovém kouři, při výrobě plastů nebo spalování odpadů. Díky své těkavosti může z půdy pronikat do ovzduší, kde se ale po krátké době (1-2 dny) rozpadá. Na částice půdy je vázán slabými vazebnými silami, což způsobuje jeho snadné proniknutí do podzemních vod, kde dokáže prodloužit dobu svého rozkladu na 6 týdnů až necelých 8 měsíců [6].

### 2.3.3.3 *Oxid chromitý ( $Cr_2O_3$ ), saze a nitrily*

#### *Oxid chromitý ( $Cr_2O_3$ )*

Tato forma oxidů v brzdovém obložení představuje funkci abraziv pro lepší třecí charakter výsledných materiálů. Z hlediska rozpustnosti je  $Cr_2O_3$  ve vodě i jiných rozpouštědlech nerozpustnou látkou. Jedná se o možného karcinogenně působícího zástupce složek materiálu brzdového obložení [6].

#### *Saze*

Saze obecně vznikají v důsledku spalovacích procesů. Ve složení brzdových desek plní funkci stabilizace brzdového účinku (maziva). Tyto látky lze z hlediska rozpustnosti porovnávat s  $Cr_2O_3$  (taktéž nerozpustné ve vodě i ostatních rozpouštědlech) [6].

#### *Nitrily*

Nitrily (stejně jako fenol a styren) funkčně zastupují pojiva frikčních materiálů. Obecná stavba nitrilů se vyznačuje charakteristickou vazbou-CN (kyano- skupina). Stejně jako v případě fenolů jsou velmi dobře rozpustné ve vodě a rovněž vytváří pro lidský organismus jedovaté směsi. V jejich případě mluvíme o toxických látkách v kapalně nebo krystalické podobě [6, 43].

## 2.4 Akutní akvatická toxicita pro sladkovodní řasy

Toxikologie je vědní disciplínou, která svou podstatu zakládá na zkoumání nežádoucích účinků určitých druhů chemických látek a jiných faktorů na sledovaný živý organismus. Lze ji dělit podle několika hledisek, např. podle doby expozice (akutní, semiakutní (semichronická), chronická) a druhu testované matrice (vodní - akvatická, půdní, sedimentační, odpadová, vzdušná, apod. [44]). Akutní akvatická toxicita tak představuje vlastnost látky nacházející se ve vodním prostředí a působící negativně na vodní organismy. Bývá vyvolána toxickými látkami, jejichž účinkem dochází ke změně chování daného organismu. Mezi nejčastěji vyvolané projevy těchto škodlivých látek spadá inhibice/stimulace růstu příslušného organismu, teratologické projevy<sup>9</sup>, druhový deficit nebo jeho možná úmrtnost (lethalita). Míra toxicity se poté stanovuje pomocí parametru toxicity, ten se označuje IC<sub>x</sub> (LC<sub>x</sub> nebo EC<sub>x</sub>) a určuje efektivní koncentraci způsobující x%-ní zpomalení vývoje sledovaného organismu. Doba expozice příslušným chemikáliím při akutních toxikologických testech je významným parametrem testů toxicity a právě tímto parametrem se rozlišuje od testů chronických, při kterých je pozorovaný organismus vystaven dlouhodobému působení toxických látek. U ryb se vyhodnocuje parametr toxicity působením po 96 hodinách, pro zástupce korýšů je charakteristická 48 hodinová expozice a v případě řas je to 72 nebo 96 hodin. Účel toxikologických testů se zakládá na stanovení rozmezí koncentrací toxicky působících látek na biologický materiál, při nichž ještě nedochází ke smrti sledovaného organismu [44, 45]. Existence databáze „CleanGredients“ nabízí možnost shromažďovat seznam toxicky aktivních látek a pro průmyslové aplikace tak vybírat méně rizikové chemikálie [46]

---

<sup>9</sup> Teratologické projevy: způsobují vývojové poruchy během prenatálního vývoje organismu.

### 2.4.1 Oddělení *Chlorophyta*

Oddělení *Chlorophyta* je souhrnný název zelených řas a zahrnuje poměrně rozsáhlou skupinu asi 8000 druhů vláknitých nebo plošně přisedlých řas, které jsou schopny adaptace všem typům biotopů. Jejich buňky se vyznačují obsahem chlorofylu *a* a *b* (fotosyntetické pigmenty),  $\alpha$ - a  $\beta$ -karotenu a několika karotenoidů [47, 48]. Jako charakteristická zásobní látka u nich funguje škrob, ale také monosacharidy i disacharidy (případně jejich deriváty-alkoholy) a polyfosfátová zrna. Určité třídy, např. *Ulvophyceae*, se vyznačují obsahem dalších zásobních látek jako je mannan a xylan. Zástupci celého oddělení mají většinou sudý počet bičíků (zpravidla 2 nebo 4) [47]. Rozmnožování probíhá pohlavně i nepohlavně, a právě jeho typ a dále jaderné či buněčné dělení, postavení bičíků či druh stélky jsou důležitými charakteristikami pro řazení řas do základního systému [47, 48]. Následující rozdělení do 7 tříd je uváděno nejčastěji v této podobě: *Prasinophyceae*, *Chlamydomphyceae*, *Chlorophyceae*, *Trebouxiophyceae*, *Ulvophyceae*, *Zygnematophyceae* a *Charophyceae* [47].

### 2.4.2 *Desmodesmus subspicatus* (*Scenedesmus subspicatus*)

*Desmodesmus subspicatus* (viz obr. 2) se řadí mezi sladkovodní kokální řasy (s buňkami kulovitého tvaru) a v podobě volně plovoucího fytoplanktonu reprezentují zdroj vitamínů, minerálů, organických látek a představují tak nezbytnou roli v příjmu potravy zooplanktonu a některých ryb. Přesto, že tyto řasy ve vodách působí spíše jako charakteristický zelený plevel, mohou fungovat jako důležitý zdroj pro nalezení odpovědí některých fyziologických, ekologických nebo evolučních otázek. Jedná se o fotosyntetizující organismy, které obsahují zelené barvivo, pigment zvaný chlorofyl. Fotosyntéza pak probíhá v části rostlinné buňky zvané chloroplast [49].



**Obr 2:** Mikroskopický pohled na buňky sladkovodní zelené řasy *Desmodesmus subspicatus*.

*Desmodesmus* není původním označením tohoto rodu zelených řas, dříve byly označovány jako *Scenedesmus suspicatus*. Tyto řasy často tvoří ploché kolonie. Jejich součástí jsou buňky, které se vyznačují charakteristickou vlastností plasticity, ta jim umožňuje změnu tvaru v závislosti na podmínkách prostředí. Buňky mají tvar elipsoidu, jehož buněčná stěna má typické dlouhé ostny, popřípadě označovány též jako zuby či žebra. Ve většině případů mají buňky sudý počet bočně spojených pórů, nejvíce však 8 uspořádaných paralelně k sobě, s vyššími počty (16 nebo 32) se setkáváme jen zřídka [49].

Akvatické zkoušky ekotoxicity dle platné legislativy pro hodnocení akutní toxicity látek [50] se standardně testují na základě stanovení inhibice růstu buněk rodu *Desmodesmus subspicatus* po expozici 72 hodin [49, 51].

#### 2.4.3 *Raphidocelis subcapitata*

Dalším modelovým organismem pro provedení testů toxicity jsou sladkovodní zelené řasy *Raphidocelis subcapitata* (původní označení *Selenastrum capricornutum*) [36]. Tyto jednobuněčné řasy prostorově zaujímají  $40\text{--}60\ \mu\text{m}^3$  a žijí ve většině sladkovodních biotopů (rybníky, jezera či bažiny), kde představují potravu zooplanktonu. Jejich buňky rostou více do délky, než šířky a často se zakřivují do tvaru půlměsíce či srpku (viz obr. 3). *Raphidocelis subcapitata* nevytváří složité struktury ani řetězce. Vyznačují se dostatečně rychlým růstem a vysokou citlivostí vůči toxickým látkám. Stejně i pro tyto zástupce sladkovodních zelených řas se testy toxicity vyhodnocují po 72 hodinách [52, 53].



**Obr. 3:** Mikroskopický pohled na řasu *Raphidocelis subcapitata* [52].

### 3 Experimentální část

V rámci experimentální části bakalářské práce byla hodnocena akutní akvatická toxicita otěrových částic z frikčního materiálu brzdové desky osobního automobilu z hlediska jejich možného účinku na sladkovodní zelené řasy *Desmodesmus subspicatus* a *Raphidocelis subcapitata*. Zdrojem otěrových částic byl modelový frikční kompozit brzdové desky. Samotný otěr byl poté získán za pomoci dynamometru (viz obr. 4), v jehož komoře na dně sedimentovaly generované částice.



**Obr. 4:** Laboratorní brzdový dynamometr (A) a detail odběrové komory dynamometru s rotujícím diskem, třmenem brzdy a párem brzdových desek (B).

#### 3.1.1 Modelová brzdová deska

Pro generování otěrových částic byl zvolen modelový frikční kompozit, jehož složení reprezentuje průměrné složení polo-kovového frikčního kompozitu (angl. semi-metallic) (tabulka 3), komerčně dostupného na evropském, severoamerickém a asijském trhu. Dle uvedeného složení byl vyroben v Center for Advanced Friction Studies na Southern Illinois University at Carbondale, USA, přičemž detailní popis přípravy kompozitu je uveden v publikaci [18]. Pro potřeby simulace zvoleného brzdného scénáře použitím laboratorního brzdového dynamometru bylo nutno připravit kompozity ve tvaru pro upevnění na pakny kompatibilní s hardware Škoda Octavia I (viz obr. 5).





**Obr. 5:** Modelová brzdová deska.

**Tabulka 3:** Chemické složení (v objemových i hmotnostních %) frikčního materiálu modelové brzdové desky.

Složka	Obj. %	Hmotn. %	Složka	Obj. %	Hmotn. %
Ocelová vlákna	2,7	10	BaSO <sub>4</sub>	6,6	9
Syntetický grafit	4,8	5	Cu	0,9	4
Grafitický uhlík	5,3	5	MgO	3,3	3
Koks	16,8	15	Sb <sub>2</sub> S <sub>3</sub>	1	3
Železný prášek	2,6	3	Sn	1,6	3
Vermikulit	3,5	5	MoS <sub>2</sub>	0,4	1
ZrSiO <sub>4</sub>	0,9	2	Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	1,4	1
Nitrilová guma	8,5	5	Fenolická pryskyřice	36,5	24
Twaron	3	2			

### 3.1.2 Charakterizace odebraných částic sedimentované frakce z dynamometru

Otěrové částice byly generovány použitím brzdového dynamometru Link M2800 (USA), který umožňuje simulaci brzdění automobilů během standardních podmínek provozu osobních automobilů [54]. Brzdové dynamometry mohou testovat nejen účinnost brzd osobních automobilů, ale všech ostatních vozidel silniční dopravy. Prostřednictvím počítačového programu u nich lze kontrolovat a regulovat rychlost před započatou simulací brzdění a brzdny tlak. Stejně tak lze monitorovat parametry jako je teplota kotouče, okolní teplota, kroutivý moment, aj. [55]. Pro generování otěrových částic byla použita standardní testovací procedura dle SAE (Society for Automotive Engineers), tzv. „wear test“, který simuluje právě otěr testovaného frikčního kompozitu a stanovuje jeho míru, na základě níž lze predikovat odolnost daného materiálu vůči otěru během

použití daného frikčního kompozitu za reálných podmínek provozu. Otěrové částice byly generovány po dobu 8 hodin a po ukončení testu byla komora dynamometru otevřena a ze dna komory byla vymetením získána sedimentovaná frakce otěrových částic. Takto získaný vzorek byl použit pro další chemické a toxikologické hodnocení, jemuž předcházela také příprava vodního výluhu dané suspenze (směs otěrových částic, zásobní kultury a potřebného množství inokula), který měl dokázat, zda se přítomné částice i přes to, že sedimentují, uvolňují kontaktem s vodou a dále se tak podílejí na kontaminaci řasové kultury.

Charakterizace otěrových částic byla experimentálně zjištěna, za pomoci skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) Quanta FEG 450 (FEI) částečně v režimu sekundárních (ETD), ale také zpětně odražených elektronů (BSED). Tato metoda byla rozšířena o EDX (energieově disperzní rentgenový spektrometr), čehož se využívá pro chemickou analýzu zkoumaného materiálu (stanovení prvků společně s jejich množstvím ve vzorku). V případě druhé analytické metody šlo o typ konfokálního Ramanova mikroskopu XploRA<sup>TM</sup> (Horiba Jobin Yvon, Francie), kdy se nejprve zvolily vhodné parametry nastavení, které pro námi provedenou analýzu byly následovné: laser 532 nm, mřížka 1200 vrypů/mm, filtr laserového svazku 25%, data byla sbírána desetkrát po dobu 10 s. Poté následovala úprava získaného spektra pomocí korekce základní linie a označení jednotlivých pásů. Spektrum bylo měřeno v celkovém rozsahu 80 – 4000 cm<sup>-1</sup>, vybrané konkrétní obrázky však zachycují pouze jeho vybranou část, ve které se nacházely naměřené pásy.

### 3.2 Testy akutní akvatické toxicity

Testy akutní akvatické toxicity byly provedeny podle normy ČSN EN ISO 8692 [50] a směrnice OECD 201 [56]. Stanovení parametru toxicity  $IC_{50}$  spočívalo v určení efektivní koncentrace způsobující 50%-ní inhibici růstu dané řasové kultury (v našem případě *Desmodesmus subspicatus* a *Raphidocelis subcapitata*) po 72 hodinové kultivaci. V zadání práce byla jako druhý detekční organismus uvedena *Chlorella vulgaris*, která však v průběhu řešení práce musela být nahrazena druhem *Raphidocelis subcapitata* z důvodu nedostatečného růstu zásobní kultury, což znemožňovalo samotné provedení testu na této řasové kultuře. Zhodnocením účinku výsledného růstu nebo jeho rychlosti testované látky v dané řasové kultuře s kulturou kontrolní (bez otěrových částic) se vyhodnotí inhibice (snížení růstové rychlosti), popř. stimulace (opak inhibice).

#### 3.2.1 Pracovní podmínky testu, potřebné pomůcky, přístroje a chemikálie

##### Podmínky testu:

Tyto testy se provádějí při standardní pokojové teplotě ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ) za kontinuálního osvitu (6000 - 10000 lux) po dobu 72 hodin v Erlenmayerových baňkách (100 ml roztoku v 250 ml baňce) se sterilní zátkou, kdy počáteční počet buněk musí být v relaci  $10000 \pm 2000$  v 1 ml. Standardně jsou vždy voleny dva paralelní testy zvolené koncentrační řady.

##### Pomůcky, přístroje a chemikálie:

- Laboratorní sklo (250 ml Erlenmayerovy baňky, odměrné baňky, kádinky různých objemů, pipeta), laboratorní balónek, kopista, kapátka, buničina.
- Elektronická pipeta, orbitální třepačka, pH metr, laboratorní váhy, světelný mikroskop s Bürkerovou (počítací) komůrkou, autokláv, sterilizátor laboratorního skla, klimatizovaný box (flow box) pro udržení rovnoměrného osvitu.
- Chemikálie dle normy ČSN EN ISO 8692 (se stupněm čistoty p. a), destilovaná voda.

### 3.2.2 Pracovní postup

#### 3.2.2.1 Příprava standardního živého roztoku

Standardní živý roztok (médium) se připraví rozředěním zásobního živého roztoku (vždy čerstvý, před použitím nutné ustavení rovnováhy se vzduchem) a destilované vody v poměru 1:9. Do odměrné baňky celkového objemu 1000 ml se odměří 100 ml zásobního živého roztoku a objem se po rysku doplní destilovanou vodou.

#### Příprava zásobního živného roztoku:

Zásobní živný roztok je tvořen 4 zásobními roztoky. Tabulka 4 zobrazuje jejich složení. Po jejich přípravě je vždy nutná jejich sterilizace v autoklávu. Výjimkou je roztok  $\text{NaHCO}_3$ , ten se sterilizuje pomocí membránové filtrace (při použití autoklávu by se mohl vypařit). Skladovat tyto roztoky poté lze ve tmě při teplotě 4 °C. Směsí patřičného množství těchto roztoků je připraven požadovaný zásobní živý roztok nezbytný pro kultivaci řasové kultury a provedení samotného testu. Odměrná baňka o objemu 1000 ml se plní postupně 100 ml živin (viz roztok č.1), 10 ml Fe-EDTA, 10 ml roztoku stopových prvků (viz roztok č.3), 10 ml roztoku  $\text{NaHCO}_3$  a nakonec po rysku se doplní destilovanou vodou. Pokud hodnota pH nespadá do intervalu fyziologického pH pro řasovou kulturu, tj.  $8,3 \pm 0,2$ , je nutné ji vhodně upravit použitím 1M-HCl nebo 1M-NaOH, aby tato podmínka byla splněna.

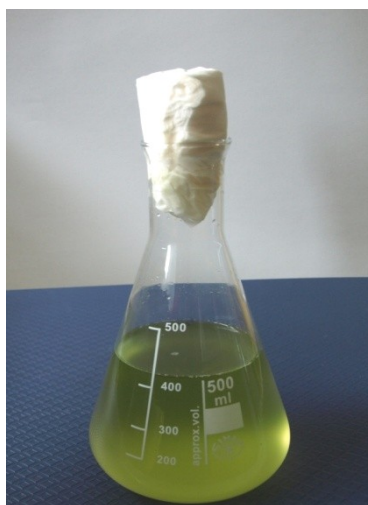
**Tabulka 4:** Složení zásobních roztoků pro přípravu zásobního živného roztoku.

Roztok č.1: živiny		Roztok č.3: stopové prvky	
látka	<i>m</i> (g)	látka	<i>m</i> (mg)
$\text{NH}_4\text{Cl}$	1,5	$\text{H}_3\text{BO}_3$	185
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,2	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	415
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,8	$\text{ZnCl}_2$	3
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1,5	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	1,5
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	0,16	$\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,01
Roztok č.2: Fe-EDTA		$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	7
látka	<i>m</i> (mg)	Roztok č.4: $\text{NaHCO}_3$	
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	80	látka	<i>m</i> (g)
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot \text{H}_2\text{O}$	100	$\text{NaHCO}_3$	50

Pozn.: Uvedené navážky (*m*) jsou udávány pro přípravu roztoku o objemu 1 l. EDTA značí zkratku organické molekuly kyseliny ethylendiamintetraoctové označovanou také jako Chelaton 2.

### Příprava zásobní kultury:

Zásobní kulturu tvoří směs zásobního živného roztoku a řasové kultury (viz obr. 6). Pravidelně (jednou týdně) se musí přeočkovat, abychom zachovali její správný růst. S předkultivací bychom měli začínat dva až čtyři dny před začátkem zkoušky. Pro udržení exponenciálního růstu média do začátku zkoušky, jej inokulujeme dostatečně nízkou hustotou buněk (zhruba  $10^4$ ) a jeho inkubaci provádíme při stejných podmínkách jako u zbylé části testu. Do testovaného roztoku tuto zásobní kulturu přidáváme v takovém množství, abychom dosáhli počáteční koncentrace  $10000 \pm 2000$  buněk/ml.



**Obr. 6:** Připravené růstové médium s řasovou kulturou *Desmodesmus subspicatus*.

#### 3.2.2.2 Provedení základního testu

Inhibici řasové kultury se testuje u vhodně zvolené koncentrační řady zkoumaného vzorku. Ta by měla zajišťovat minimálně jednu inhibici pod a jednu nad očekávaným parametrem IC<sub>x</sub>. Pokud toxicita zkoumaného vzorku není známá z dostupných studií, je pro vhodný rozsah koncentrací optimálně využíváno předběžné zkoušky. Poté se nalezená koncentrační řada připraví jako směs řasové kultury s daným množstvím ořetrových částic. Pro tyto účely se nejprve ořez z brzdového obložení ručně zpracuje na achátové třecí misce (homogenizace hrubé frakce). Poté se postupně naváží 150, 200, 250, 300 a 350 mg/l pro provedení paralelních testů. Testy těchto směsí jsou prováděny v Erlenmayerových baňkách uzavřených sterilní zátkou za účelem ochrany proti možné kontaminaci a sníženímu odpaření vody. Pokud je potřeba, pH připravených suspenzí se upraví na požadovanou hodnotu  $8,3 \pm 0,2$  (přídavkem 1M-HCl nebo 1M-NaOH). Ve flow boxu při teplotě  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$  zajišťujícím stejnoměrné osvětlení jsou očkovány všechny připravené suspenze (včetně kontroly) potřebným množstvím inokula (viz

vztah (1)), to je vypočteno v souladu s podmínkou počáteční koncentrace buněk v 1 ml ( $10000 \pm 2000$  buněk/ml).

$$x = \frac{V \cdot c}{a} \quad (1)$$

kde:  $V$  (množství testovaného roztoku (ml)),  $c$  (požadovaný počet buněk na začátku testu v 1 ml),  $a$  (hustota inokulační kultury (počet buněk/ml)) a  $x$  (potřebný objem inokula).

Následně je vše připraveno pro 72 hodinovou expozici v uzavřeném termostatu (při teplotě 24 °C) při neustálém míchání na orbitální třepačce při nastavení ( $125 \pm 25$ ) rpm (otáček za minutu).

### 3.2.2.3 Podmínky účinnosti testu

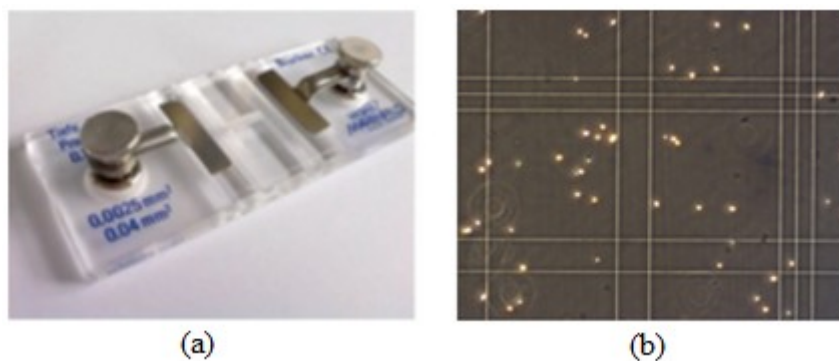
Aby byla splněna platnost prováděného testu, je nutno v jeho průběhu zachovat dvě základní pravidla:

1) Řasová kultura správně narostla (po 72 hodinové expozici), jestliže při jejím vyhodnocení zaznamenáme nárůst počtu buněk v 1 ml minimálně 16 krát vyšší, než na počátku testu.

2) V průběhu testu se nesmí pH měnit více, než o hodnotu 1,5.

### 3.2.2.4 Počítání v Bürkerově komůrce

Princip mikroskopického počítání v Bürkerově komůrce (viz obr. 7) spočívá v určení počtu řasových buněk v 1 ml. Počet buněk se nejprve stanoví pro 50 velkých čtverců, pokud jich v tomto případě nezískáme více, než 400, musíme stejný postup opakovat pro 100 čtverců. Pro získání potřebného počtu buněk v 1 ml, násobíme výsledné množství v dané ploše číslem 5000 (50 čtverců), resp. 2500 (100 čtverců).



**Obr. 7:** Bürkerova komůrka (a) a vpravo mikroskopický pohled na buňky *Desmodesmus subspicatus* v Bürkerově komůrce (b).

### 3.2.2.5 Zpracování výsledků testu

Výsledná hodnota parametru toxicity  $IC_{50}$  je stanovena v závislosti na růstové rychlosti  $\mu$  (viz vztah (2)) připravených koncentrací a řasové kultury v kontrole.

$$\mu = \frac{\ln N_n - \ln N_0}{t_n} \quad (2)$$

Kde:  $N_n$  (hustota buněk v závěru testu (počet buněk/ml)),  $N_0$  (hustota buněk na počátku testu (počet buněk/ml)) a  $t_n$  (doba trvání testu (dny)).

Tyto hodnoty  $\mu$  pomohou určit výslednou procentuální inhibici růstu řasové kultury (popř. stimulaci) každé koncentrace testované suspenze  $I_i$  (viz vztah (3)). K inhibici dochází tehdy, je-li  $I_i > 0$ .

$$I_i = \frac{(\mu_c - \mu_i)}{\mu_c} \cdot 100 \quad (3)$$

Kde:  $\mu_c$  a  $\mu_i$  (růstové rychlosti: řasové kultury v kontrole a ve sledované koncentraci).

Pro vyhodnocení testu a určení potřebného parametru toxicity se sestrojí grafická závislost hodnot  $I_i$  (závislá proměnná- osa y) a jím odpovídajícím koncentracím suspenzí  $c_i$  (nezávislé proměnné- osa x). Parametr  $IC_{50}$  je poté stanoven na základě metody regresní rovnice (její průsečík s 50 %-ní inhibicí).

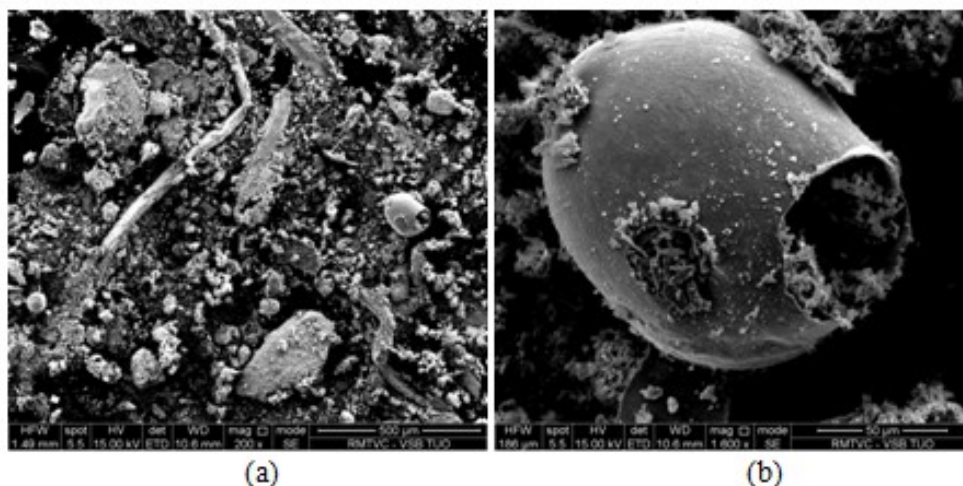
### 3.2.2.6 Příprava suspenzí pro analýzu skenujícím elektronovým mikroskopem

Připravené suspenze otěrových částic o koncentraci 200 mg/l (směs řasové kultury, otěrových částic a potřebného množství inokula) podrobená 72 hodinové expozici se přefiltrují přes membránový filtr s velikostí pórů 0,45  $\mu m$ . Poté se tyto výluhy (z obou řasových kultur) nakápnou na mikroskopické sklíčko, po vyschnutí se proces asi 10 krát opakuje a v konečné fázi se nechá naprášit tenkou vrstvou kovu (Au a Pd).

### 3.3 Výsledky a diskuze

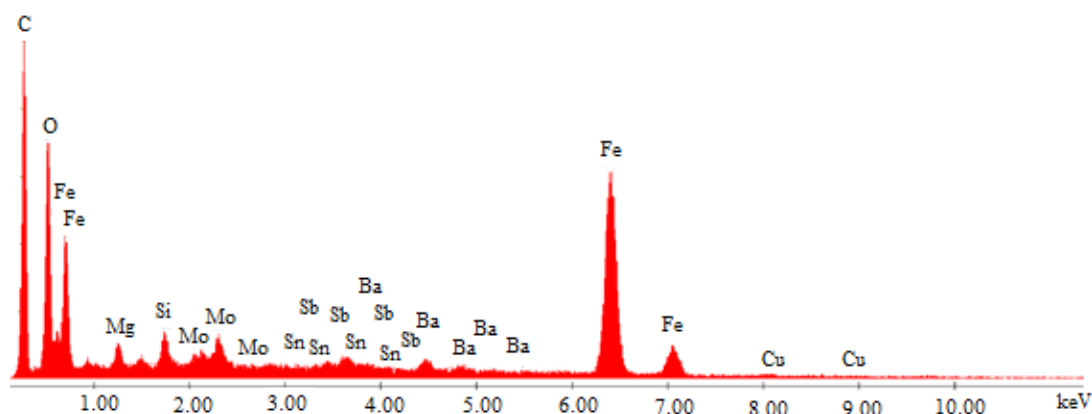
#### 3.3.1 Charakterizace otěrových částic

Skenovací elektronový mikroskop (SEM) Quanta FEG 450 (FEI) v režimu sekundárních elektronů (ETD) prokázal značně heterogenní morfologii a elementární složení otěrových částic (viz obr. 8). Ve vybrané části otěru z brzdového obložení (viz obr. 8 (a)) byla stanovena přítomnost Ba, C, Cu, Fe, Mg, Mo, O, Sb, Si, a Sn (C může být přítomen také z uhlíkové pásky). I přes odlišnou morfologii mají tyto částice poměrně shodné prvkové zastoupení, což je vidět na obr. 9, kde daná prvková analýza železné kuličky (viz obr. 9 (b)), která byla součástí analyzovaného vzorku, z velké části odpovídá složení vybraného vzorku otěrových částic (viz obr. 9 (a)).

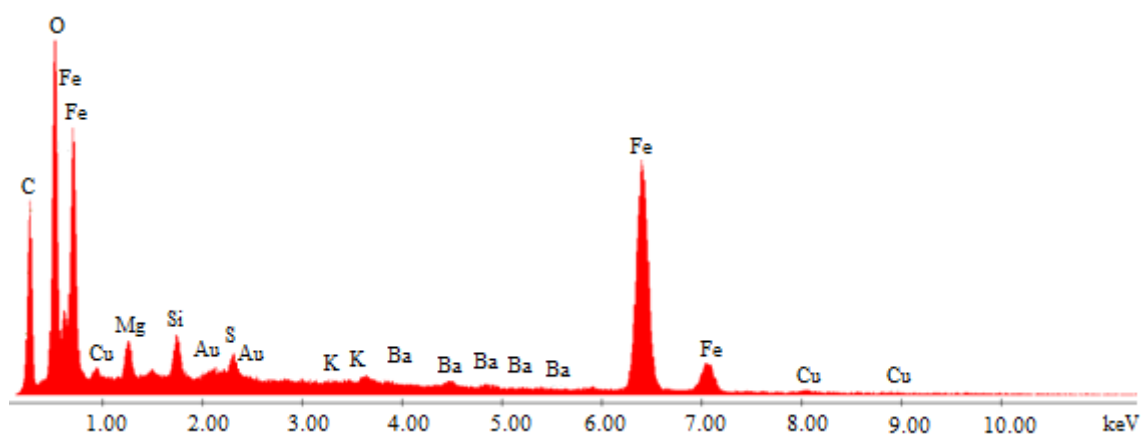


**Obr. 8:** Ukázka snímků pořízených metodou SEM. Celkový pohled na vzorek sedimentované frakce otěrových částic ((a), zvětšeno 200x) a vpravo detailní pohled na detekovanou železnou kuličku v otěru ((b), zvětšeno 1600x).





(a)



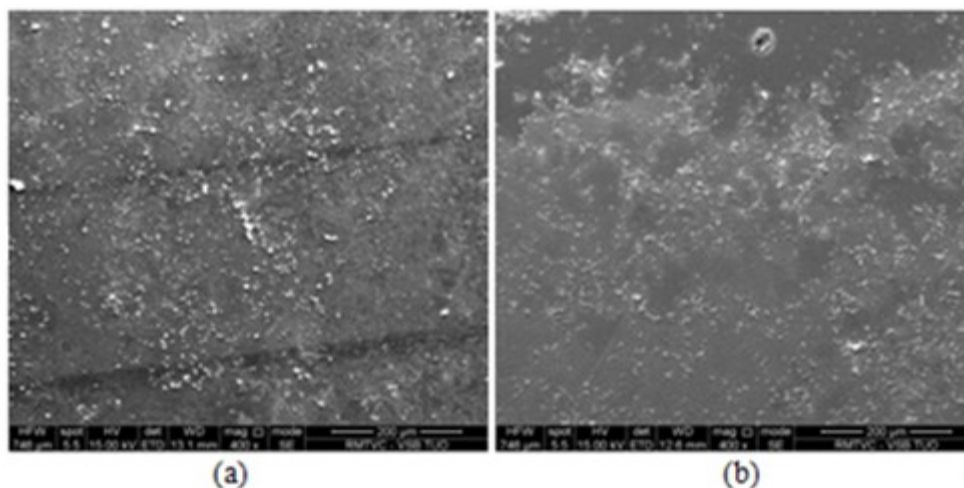
(b)

**Obr. 9:** EDX spektra, získaná metodou SEM-EDX, uvádějící prvkové složení: (a) vzorku otěrových částic z obr. 8 (a) a spektrum (b) pro detekovanou železnou kuličku z obr. 8 (b).

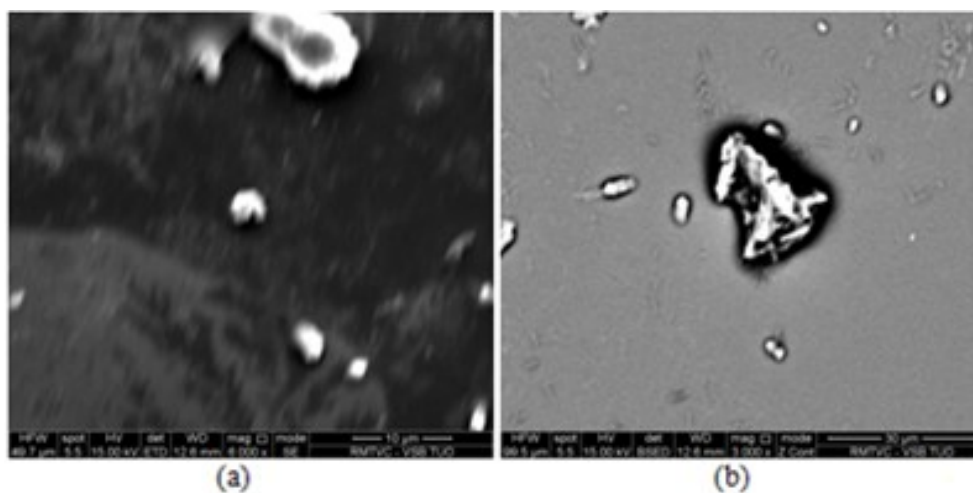
Jelikož těžší částice v průběhu testu akutní akvatické toxicity sedimentovaly u dna Erlenmayerových baněk, byl proto prováděna analýza suspenzí obou zástupců sladkovodních řas (*Desmodesmus subspicatus* i *Raphidocelis subcapitata*) s daným množstvím otěrových částic (koncentrace 200 mg/l). SEM analýza na obr. 10 znázorňuje celkový pohled vybrané části povrchu výluhu obou řas v režimu ETD. Na obr. 11-14 je postupně metodou SEM (režim ETD-sekundární elektrony nebo BSED-zpětně odražené elektrony) naznačena možná přítomnost nanometrických frakcí kovových částic z brzdového otěru automobilů. Tyto složky jsou navázané na větších částicích a v reálném/laboratorním prostředí pak sedimentují na povrchu vozovky/dně Erlenmayerových baněk. Prvková analýza vysušených kapek z daných suspenzí (viz obr. 12 a 14) tak do-

kazuje, že se tyto částice po kontaktu s vodou mohou oddělovat od větších částic a samy pronikat do systémů vodních řečišť/pozorovaného média.

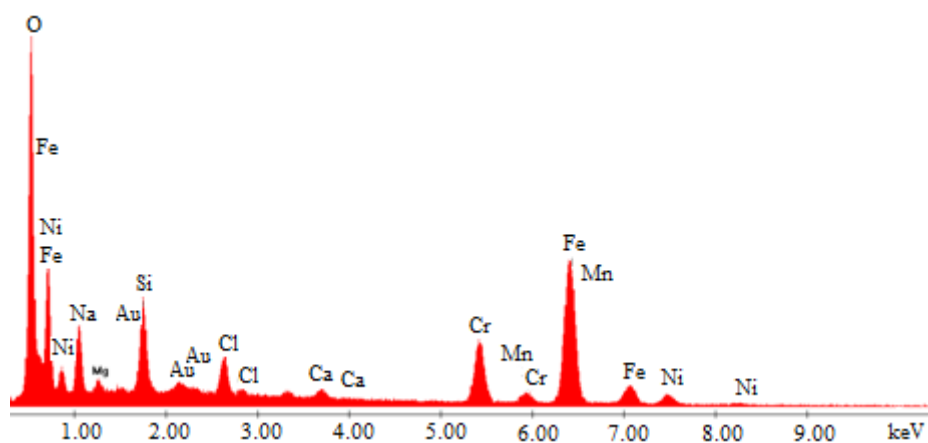
Naprášení vzorku před mikroskopickou analýzou metodou SEM-EDX je důsledkem existence Au ve výsledných analýzách a přítomnost Si může pocházet z mikroskopického sklíčka, na němž byl daný výluh vysoušen.



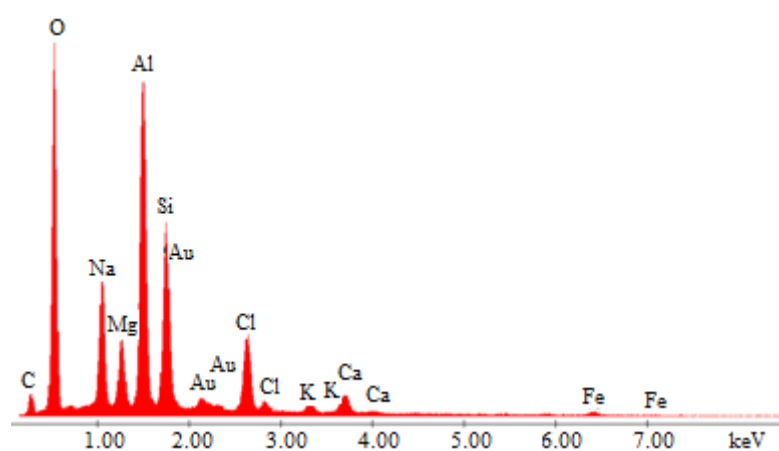
**Obr. 10:** Povrch vysušené kapky ze suspenze řasové kultury *Raphidocelis subcapitata* (a) a *Desmodesmus subspicatus* (b) exponované ošetrovým částicím, zobrazený metodou SEM v režimu ETD (zvětšeno 400x).



**Obr. 11:** SEM snímky částic detekovaných v suspenzi řasové kultury *Desmodesmus subspicatus* s testovanými ošetrovými částicemi ((a) režim ETD (zvětšeno 6000x) a (b) režim BSED (zvětšeno 3000x)).



(a)

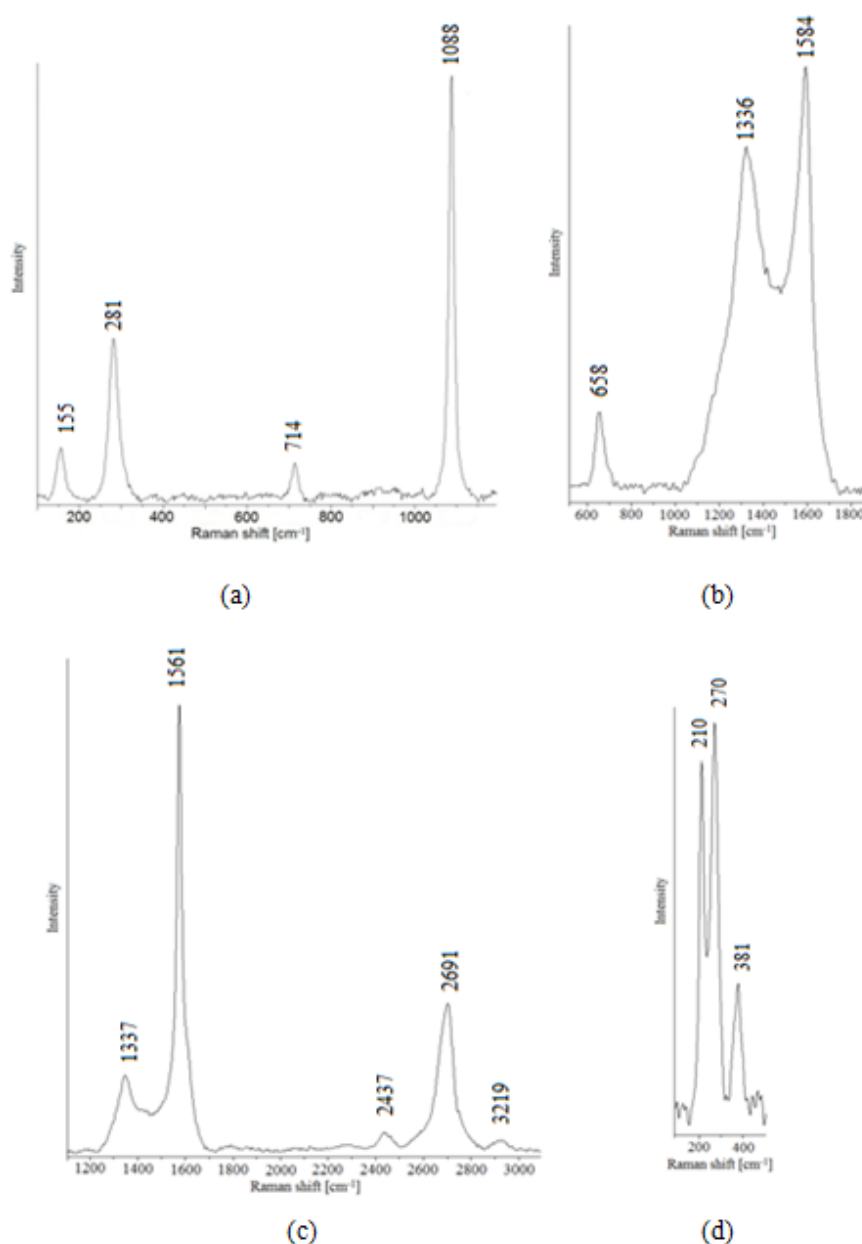


(b)

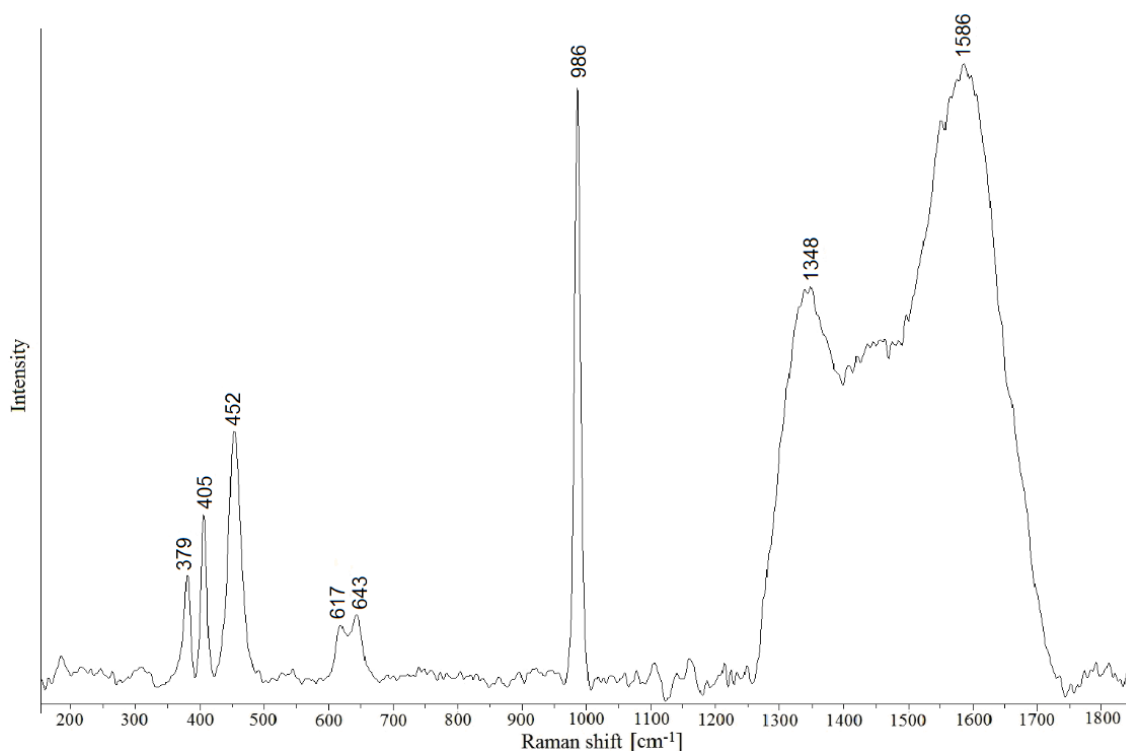
**Obr. 12:** Prvková analýza vybraných částic v suspenzi řasy *Desmodesmus subspicatus*: horní spektrum (a) představuje složení částic z obr. 11 (a) a spodní spektrum (b) z obr. 11 (b).



Druhou mikroskopickou metodou pro popis analyzované části vzorku sedimentované frakce otěru z brzdových desek automobilů byla Ramanova mikrospektroskopie. Obr. 15 a 16 znázorňují detekce pásů, jimž byly přiřazeny odpovídající sloučeniny: baryt ( $\text{BaSO}_4$ ), kalcit ( $\text{CaCO}_3$ ), hematit ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), magnetit ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), molybdenit ( $\text{MoS}_2$ ), grafit a saze. Prostřednictvím této analýzy bylo určeno, že se vzorek skládá jednak z velmi nehomogenních částic (detekce více složek v jednom spektru, viz obr. 16), ale také z částic homogenních (výskyt samostatných částic, detekce jediné složky v získaném spektru, viz obr. 15).



**Obr. 15:** Získaná Ramanova spektra sloučenin detekovaných v pevném vzorku sedimentované frakce otěrových částic: kalcit (a), magnetit (b), grafit (c) a hematit (d).



**Obr. 16:** Ramanovo spektrum barytu (452, 617, 643 a 986  $\text{cm}^{-1}$ ), molybdenitu (379, 405 a 452  $\text{cm}^{-1}$ ) a sazí (1348 a 1586  $\text{cm}^{-1}$ ) detekovaných v pevném vzorku sedimentované frakce otěrových částic.

Z výše uvedených výsledků je evidentní, že po smíchání sedimentované frakce otěrových částic s vodou dochází k uvolnění submikronových částic do vodné fáze. Je tedy předpoklad, že se na případném toxickém účinku mohou podílet jak rozpuštěné formy různých iontů, tak pevné částice, které mohou rovněž interagovat s použitými detekčními organismy.

### 3.3.2 Akutní akvatická toxicita

V tabulce 5 a 7 je zaznamenán rozdíl hodnot pH na počátku a konci testů akutní akvatické toxicity, z jehož bilance sledujeme splnění podmínky testu v rámci změny pH. Růstové kontroly řas jen stěží splnily podmínku 16- ti násobku počtu buněk (v případě *Desmodesmus subspicatus* byly stále mírně pod hranicí- 64 (hraniční podmínka nárůstu počtu buněk v 1 ml na konci testu)). Sledovaný počet buněk v tabulce 5 a 7 byl určen z mikroskopického počítání v Bürkerově komůrce. Výsledná procentuální inhibice/stimulace  $I_i$  stanovená v tabulce 6 a 8 byla určena na základě vztahu (3), kterému předcházela výpočet růstové rychlosti  $\mu_i$  podle vztahu (2). Inhibici pozorujeme v případě, kdy je hodnota  $I_i > 1$  (v opačném případě hovoříme o stimulaci růstu řas). Během pro-

vedených testů se projevila neefektivita přípravy suspenzí odpovídajících koncentrací (kolísající hodnoty paralelních testů a to v případě *Desmodesmus subspicatus*), což mohlo vzniknout důsledkem stanoveným za pomoci Ramanovy spektroskopie (vysoký heterogenní charakter otěru zamezil v odebrání kvalitativně shodných dávek vzorku).

**Tabulka 5:** Zjištěné hodnoty počtu buněk řasy *Desmodesmus subspicatus* v průběhu testů akutní akvatické toxicity po 72h expozici.

Paralelní test	c [mg/l]	Hodnota pH			Počet buněk
		Počátek testu	Konec testu	Rozdíl pH	
1	150	8,44	8	0,44	566
2		8,39	7,25	1,14	599
1	200	8,43	7,53	0,9	51
2		8,22	7,38	0,84	45
1	250	8,42	7,63	0,79	235
2		8,24	7,46	0,78	74
1	300	8,28	7,73	0,55	380
2		8,46	7,68	0,78	60
1	350	8,48	7,69	0,79	166
2		8,18	7,5	0,68	53
Kontrola (1)					58
Kontrola (2)					62

Pozn.: určený počet buněk byl prováděn ve 100 čtvercích Bürkerovy počítací komůrky.

**Tabulka 6:** Vypočtené procentuální hodnoty inhibice, resp. stimulace růstu řasové kultury *Desmodesmus subspicatus* po expozici otěrovým částicím po 72h expozici.

c [mg/l]	Aritmetický průměr počtu řas	$N_n$ [buněk/ml]	$\mu_i$ růstová rychlost	$I_i$ inhibice/stimulace [%]
150	582,5	1456250	1,6603	-83,93
200	48	120000	0,8283	8,24
250	154,5	386250	1,2180	-34,93
300	220	550000	1,3358	-47,98
350	109,5	273750	1,1032	-22,22
Kontrola	60	150000	0,9027	

**Tabulka 7:** Zjištěné hodnoty počtu buněk řasy *Raphidocelis subcapitata* v průběhu testů akutní akvatické toxicity po 72h expozici.

Paralelní test	c [mg/l]	Hodnota pH			Počet buněk
		Počátek testu	Konec testu	Rozdíl pH	
1	150	8,37	7,38	0,99	6
2		8,35	7,39	0,96	8
1	200	8,44	7,43	1,01	15
2		8,46	7,5	0,96	18
1	250	8,39	7,49	0,9	11
2		8,33	7,67	0,66	12
1	300	8,42	7,58	0,84	21
2		8,48	7,54	0,94	15
1	350	8,49	7,69	0,8	12
2		8,46	7,64	0,82	11
Kontrola (1)					65
Kontrola (2)					64

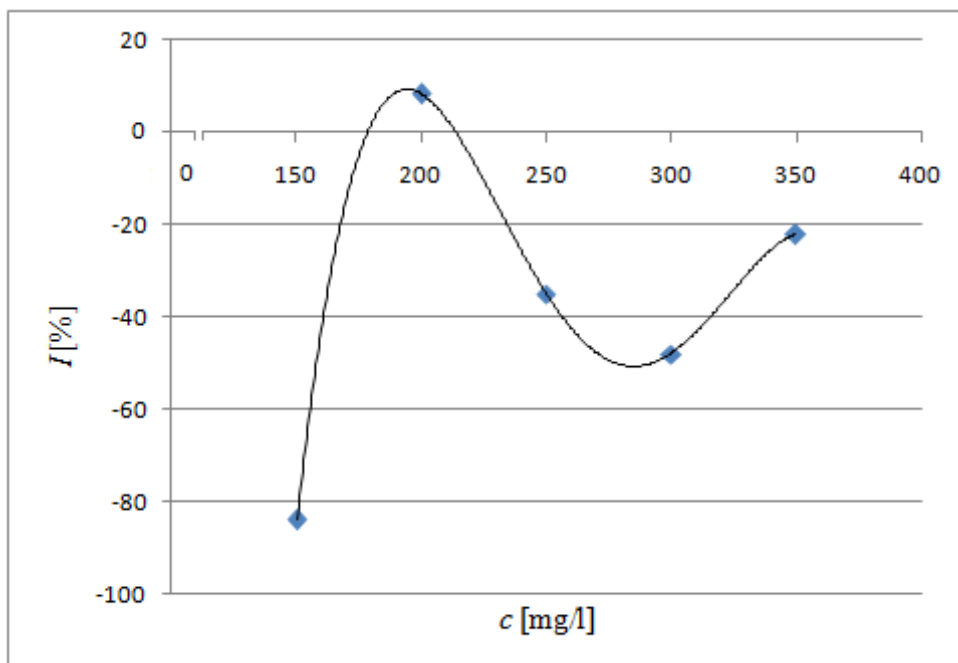
Pozn.: určený počet buněk byl prováděn ve 100 čtvercích Bürkerovy počítací komůrky.

**Tabulka 8:** Vypočtené procentuální hodnoty inhibice růstu řasové kultury *Raphidocelis subcapitata* po expozici ořetovým částicím po 72h expozici.

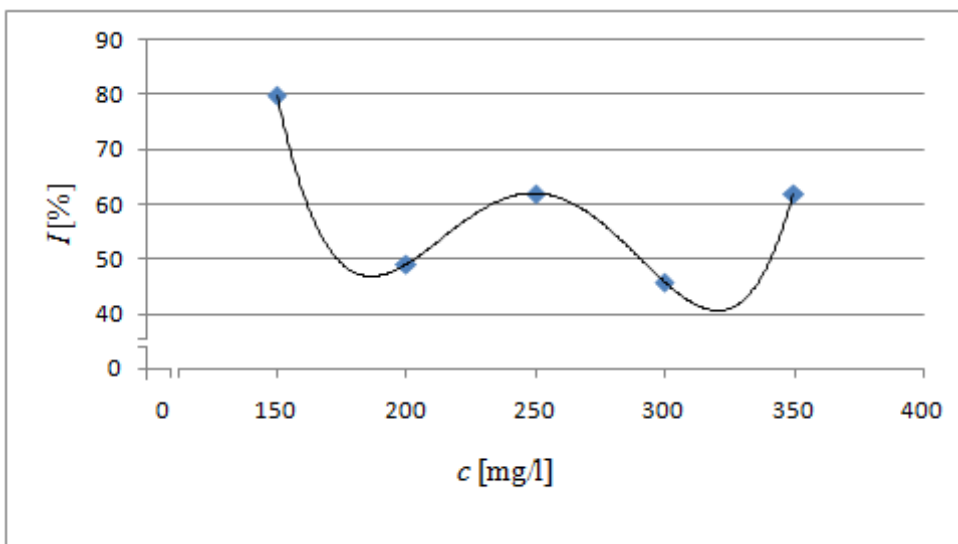
c [mg/l]	Aritmetický průměr počtu řas	$N_n$ [buněk/ml]	$\mu_i$ růstová rychlost	$I_i$ inhibice/stimulace [%]
150	7	17500	0,1865	79,82
200	16,5	41250	0,4724	48,89
250	11,5	28750	0,3520	61,91
300	18	45000	0,5014	45,75
350	11,5	28750	0,3520	61,91
Kontrola	64,5	160000	0,9242	



Grafické závislosti (viz obr. 17 a 18) určují, jak dané částice z otěru brzdového obložení automobilů ovlivnily růst řasových kultur. V případě řasy *Desmodesmus subspicatus* (viz obr. 17) šlo především o stimulaci růstu, kdežto u řasy *Raphidocelis subcapitata* (viz obr. 18) výsledný účinek měl charakter inhibice růstu.



**Obr. 17:** Vyjádřená závislost inhibice, resp. stimulace růstu  $I$  na příslušné koncentraci suspenze  $c$  pro řasu *Desmodesmus subspicatus*.



**Obr. 18:** Vyjádřená závislost inhibice, resp. stimulace růstu  $I$  na příslušné koncentraci suspenze  $c$  pro řasu *Raphidocelis subcapitata*.

V obou případech však nebyla pozorovaná závislost lineární a závislost dávka-odezva značně kolísala. Tento trend mohl být způsoben nehomogenitou aplikovaných dávek testovaného vzorku. Z tohoto důvodu nebylo možné stanovit hodnoty  $IC_{50}$  pro jednotlivé detekční organismy. Je však možno konstatovat, že použité zelené řasy vykazují odlišnou citlivost vůči testovanému materiálu, který vykazuje jistý potenciál inhibovat růst řasy *Raphidocelis subcapitata*.

## 4 Závěr

Předmětem bakalářské práce bylo experimentální posouzení míry toxického působení otěrových částic projevující se na růstu sladkovodních zelených řas *Desmodesmus subspicatus* a *Raphidocelis subcapitata*.

Experimentální část se postupně formovala od počátečního odběru sedimentované frakce otěru z frikčních materiálů modelových brzdových desek (G6C), přes jejich charakterizaci za pomoci dvou analytických metod (SEM a Ramanova spektroskopie) až po samotné testy akutní akvatické toxicity. Pomocí analýzy vodného výluhu metodou SEM se potvrdily výsledky nedávné studie [21] prokazující přítomnost nanometrických frakcí navázaných na větších částicích sedimentovaného vzorku otěru, které se po kontaktu s vodou mohou oddělovat a samy tak pronikat do půdních vod. Dalším závěrem charakterizace otěrových částic bylo zjištění, že se jedná o strukturně heterogenní vzorky, ve kterých byla detekována přítomnost Ba, C, Ca, Cu, Fe, Mg, Mo, O, Sb, Si, Sn (pomocí EDX-SEM), pro které Ramanova spektroskopie určila jejich potenciální formy v podobě barytu ( $\text{BaSO}_4$ ), kalcitu ( $\text{CaCO}_3$ ), hematitu ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), magnetitu ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), molybdenitu ( $\text{MoS}_2$ ), grafitu a sazí. Výsledky testů akutní akvatické toxicity na těchto materiálech doposud nebyly v odborné literatuře publikovány, proto bylo nutné určit vhodnou koncentrační řadu potřebného množství otěru pro přípravu výsledné suspenze odhadem. Provedla se série opakování, na základě kterých se vybrala řada od 150 do 350 mg/l s krokem 50 mg/l. V konečných výsledcích se promítnula chyba při laboratorní přípravě požadovaných suspenzí v rámci heterogenní struktury vzorku, což znemožnilo určení požadovaného parametru toxicity  $\text{IC}_{50}$  v důsledku nelineárního průběhu závislosti dávka - odezva. K optimalizaci provedených testů by mohla přispět větší pozornost při homogenizaci vzorku a kontrole odběru kvalitativně shodných dávek aplikovaných v samotném testu.

## 5 Použitá literatura

- [1] J. Trojková, Ph.D., Manuál pro výuku: Okénko do nanosvěta. Ostrava, 2010.
- [2] J.K. Gietl, R. Lawrence, A.J. Thorpe, R.M. Harrison. Identification of brake wear particles and derivation of a quantitative tracer for brake dust at a major road. *Atmospheric Environment* 44 (2010) 141-146.
- [3] Automobily: Kotoučová brzda. Dostupné z:  
<http://auto-pc.webnode.cz/automobily/kotoucova-brzda/>.
- [4] Brake problems: Wear, corrosion, distortion and other common causes of failure. 2011. Dostupné z: [http://www.theaa.com/motoring\\_advice/general-advice/brakes-discs-drums-pads.html](http://www.theaa.com/motoring_advice/general-advice/brakes-discs-drums-pads.html).
- [5] J. Kukutschová, V. Roubíček, M. Mašláň, D. Jančík, V. Slovák, K. Malachová, Z. Pavlíčková, P. Filip. Wear performance and wear debris of semimetallic automotive brake materials. *Wear* 268 (2010) 86-93.
- [6] Š. Cidlinská a F. Krtička. Brzdové systémy a jejich možný vliv na člověka a životní prostředí. Pardubice, 2010. Semestrální práce. Univerzita Pardubice. Dostupné z: [http://envi.upce.cz/pisprace/prezencni/26\\_SP\\_05.PDF](http://envi.upce.cz/pisprace/prezencni/26_SP_05.PDF).
- [7] J. Kukutschová, V. Roubíček, K. Malachová, Z. Pavlíčková, R. Holuša, J. Kubáčková, V. Mička, D. MacCrimmon, P. Filip. Wear mechanism in automotive brake materials, wear debris and its potential environmental impal. *Wear* 267 (2009) 807-817.
- [8] Brzdy a brzdový systém automobilu. In: *Automonti*. 2008. Dostupné z: <http://www.automonti.cz/pdf/brzdy-brzdovy-system.pdf>.
- [9] Brzdy. In: *AutoZnalosti*. 2011. Dostupné z: <http://www.autoznalosti.cz/index.php/podvozek-a-kola/33-brzdyi.html>.
- [10] Charakterizace brzd. In: *Autodily PEMA*. 2012. Dostupné z: <http://www.brzdy-pema.cz/cs/rady-tipy-slovnicek-pojmu.html>.
- [11] D.S. Yawas, S.Y. Aku, S.G. Amaren. Morphology and properties of periwinkle shell asbestos-free brake pad, *Journal of King Saud University - Engineering Sciences*, 2013.

- [12] K.W. Liew, U. Nirmal. Frictional performance evaluation of newly designed brake pad materials. *Materials & Design* 48 (2013) 25-33.
- [13] Copper Released from Brake Lining Wear in the San Francisco Bay Area. 2006. Dostupné z: <http://www.suscon.org/bpp/pdfs/BrakeSourcesReportFinal01-30-06a.pdf>.
- [14] D. Chan, G.W. Stachowiack. Review of automotive brake friction materials. *Journal Automobile Engineering* 208 (2004) 953-966.
- [15] A. Thorpe, R.M. Harrison. Sources and properties of non-exhaust particulate matter from road traffic: A review. *Science of The Total Environment* 400 (2008) 270-282.
- [16] Nové technologie pro energetický management vozidel. 2009. Dostupné z: <http://projekt150.ha-vel.cz/node/146>.
- [17] Výzkum frikčních materiálů. Dostupné z: [http://www.vsb.cz/9360/cs/urceno-pro/prumyslove-partnery/Flyer\\_JUHA\\_2.pdf](http://www.vsb.cz/9360/cs/urceno-pro/prumyslove-partnery/Flyer_JUHA_2.pdf).
- [18] J. Kukutschová, V. Roubíček, K. Malachová, Z. Pavlíčková, R. Holuša, J. Kubáčková, V. Mička, D. MacCrimmon, P. Filip. Wear mechanism in automotive brake materials, wear debris and its potential environmental impal. *Wear* 267 (2009) 807-817.
- [19] J. Kukutschová, P. Moravec, V. Tomášek, V. Matějka, J. Smolík, J. Schwarz, J. Seidlerová, K. Šafářová, P. Filip. On airborne nano/micro-sized wear particles released from low-metallic automotive brakes. *Environmental Pollution* 159 (2011) 998-1006.
- [20] Simulace emisí nanočástic z brzdných procesů na dynamometru s ohledem na distribuci škodlivin. In: *InNET: VŠB-Technická univerzita Ostrava*. 2014. Dostupné z: <http://innet.vsb.cz/cs/veda-a-vyzkum/specificky-vs-vyzkum/schvalene-projekty-2014/?projectDetailId=22691>.
- [21] P. Peikertová, J. Kukutschová, I. Vávra, V. Matějka, O. Životský, M. Vaculík, P.W. Lee, P. Filip. Water suspended nanosized particles released from nonairborne brake wear debris. *Wear* 306 (2013) 89-96.

- [22] B.D. Garg, S.H. Cadle, P.A. Mulawa, P.J. Groblicki. Brake wear particulate matter emissions. *Environmental Science and Technology* 34 (2000) 4463–4469.
- [23] P.G. Sanders, N. Xu, T.M. Dalka, M. Maricq. Airborne brake wear debris: size distributions, composition, and a comparison of dynamometer and vehicle tests, *Environmental Science and Technology* 37 (2003) 4060-4069.
- [24] K. Šafářová. Skenovací (rastrovací) elektronová mikroskopie. 2012. Workshop: Mikroskopické techniky SEM a TEM. Centrum pro výzkum nanomateriálů, Olomouc. Dostupné z: [http://nanosystemy.upol.cz/upload/18/safarova\\_sem.pdf](http://nanosystemy.upol.cz/upload/18/safarova_sem.pdf).
- [25] M. Dendisová, P. Žvátora a P. Matějka. Ramanova spektrometrie. 2013/2014. Ústav analytické chemie VŠCHT Praha. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/anl/lach2/RAMAN.pdf>.
- [26] P. Valášek. Využití Ramanovy spektroskopie pro identifikaci inkoustů na českých bankovkách a jejich padělcích. 2012. Studentská práce STOČ. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Dostupné z: <http://akce.fs.vsb.cz/2012/stoc2012/soutezni prace/valasek.pdf>.
- [27] Ramanova spektroskopie. In: Ústav chemie přírodních látek, FPBT - VŠCHT Praha. 2009. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/lam/new/SpAnalPL-3.pdf>.
- [28] K. Augsburg. Investigation of Brake Wear Particles. In: *Technical Journal Readout*. 2012. Dostupné z: <http://www.horiba.com/publications/readout/article/investigation-of-brake-wear-particles-22793/>.
- [29] M. Gasser, M. Riediker. Particle and Fibre Toxicology: Toxic effects of brake wear particles on epithelial lung cells in vitro. In: *BioMed Central*. 2009. Dostupné z: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1743-8977-6-30.pdf>.
- [30] M. Mosleh, P.J. Blau, D. Dumitrescu. Characteristics and morphology of wear particles from laboratory testing of disk brake materials. *Wear* 256 (2004) 1128-1134.
- [31] M. Abu-Allaban, J.A. Gillies, A.W. Gertler, R. Clayton, D. Proffitt. Tailpipe, resuspended road dust, and brake-wear emission factors from on-road vehicles. *Atmospheric Environment* 37 (2003) 5283-5293.

- [32] Fyziologie rostlin: Test fytoxicity těžkých kovů (test elongace kořene). Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, 2013. Dostupné z: <http://www.sci.muni.cz/~fyzrost/fytotoxicita.htm>.
- [33] M. He, G.M. Tian, X.G. Liang. Phytotoxicity and speciation of copper, zinc and lead during the aerobic composting of sewage sludge. *Journal of Hazardous Materials* 163 (2009) 671-677.
- [34] W.N. Beyer, C.E. Green, M. Beyer, R.L. Chaney. Phytotoxicity of zinc and manganese to seedlings grown in soil contaminated by zinc smelting. *Environmental Pollution* 179 (2013) 167-176.
- [35] I. Joško, P. Oleszczuk. Influence of soil type and environmental conditions on ZnO, TiO<sub>2</sub> and Ni nanoparticles phytotoxicity. *Chemosphere* 92 (2013) 91-99.
- [36] M. Heinlaan, A. Ivask, I. Blinova, H.Ch. Dubourguier, A. Kahru. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO<sub>2</sub> to bacteria *Vibrio fischeri* and crustaceans *Daphnia magna* and *Thamnocephalus platyurus*. *Chemosphere* 71 (2008) 1308-1316.
- [37] D. Lin, B. Xing. Phytotoxicity of nanoparticles: Inhibition of seed germination and root growth. *Environmental Pollution* 150 (2007) 243-250.
- [38] L. A. Shupert, S.D. Ebbs, J. Lawrence, D.J. Gibson, P. Filip. Dissolution of copper and iron from automotive brake pad wear debris enhances growth and accumulation by the invasive macrophyte *Salvinia molesta* Mitchell. *Chemosphere* 92 (2013) 45-51.
- [39] V. Matějka, Y. Lu, P. Matějková, B. Smetana, J. Kukutschová, M. Vaculík, V. Tomášek, S. Zlá, Y. Fan. Possible stibnite transformation at the friction surface of the semi-metallic friction composites designed for car brake linings. *Applied Surface Science* 258 (2011) 1862-1868.
- [40] H. Jang, S.J. Kim. The effects of antimony trisulfide (Sb<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) and zirconium silicate (ZrSiO<sub>4</sub>) in the automotive brake friction material on friction characteristics. *Wear* 239 (2000) 229-236.
- [41] O. Uexküll, S. Skerfving, R. Doyle, M. Braungart. Antimony in brake pads – a carcinogenic component? *Journal of Cleaner Production* 13 (2005) 19-31.

- [42] Fenoly. In: *Arnika*. 2010. Dostupné z: <http://arnika.org/fenoly>.
- [43] Z. Szocsová. Funkční deriváty karboxylových kyselin – estery, amidy, nitrily. In: *O škole*. 2010. Dostupné z: [http://www.oskole.sk/?id\\_cat=53&clanok=6533](http://www.oskole.sk/?id_cat=53&clanok=6533)
- [44] Toxikologie, toxicita. In: *VŠCHT Praha*. 2009. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/document.php?docId=8130>.
- [45] Hazardous to the aquatic environment: Hazard classes and categories aquatic toxicity. In: *International Labour Organization*. 2001. Dostupné z: <http://www.ilo.org/legacy/english/protection/safework/ghs/ghsfinal/ghsc14.pdf>.
- [46] Acute Aquatic Toxicity: Master in Surfactants. In: *Cleangredients*. 2010.  
Dostupné z: <http://www.cleangredients.org/ingredient-modules/surfactants/attributes/acute-aquatic-toxicity>.
- [47] J. Kaštovský, J. a T. Hauer. Oddělení Chlorophyta - zelené řasy. Fykologická laboratoř, České Budějovice. 2009. Dostupné z: <http://www.sinicearasy.cz/pokr/Chlorophyta>.
- [48] Chlorophyta-zelené řasy. In: *Moře a oceány*. 2013. Dostupné z: <http://www.moreaoceany.wbs.cz/Chlorophyta-zelene-rasy.html>.
- [49] *Desmodesmus subspicatus*. In: Natural history museum. 2013. Dostupné z: <http://www.nhm.ac.uk/nature-online/species-of-the-day/scientificadvances/industry/des-modesmus-subspicatus/index.html>.
- [50] Český normalizační institut. Jakost vod-zkouška inhibice růstu sladkovodních zelených řas. *Česká technická norma ISO 8692*: 2004,2005.
- [51] Cultures for ecotoxicity and biocide testing: Algae for Ecotoxicity Testing. In: *Culturecollection: Of algae and protozoa*. Dostupné z: [http://www.ccap.ac.uk/about\\_us/ecotoxicity.htm](http://www.ccap.ac.uk/about_us/ecotoxicity.htm).
- [52] Green Algae (*Selenastrum*). Dostupné z: [http://fmp.conncoll.edu/Silicasecchidisk/LucidKeys/Carolina\\_Key/html/Selenastrum\\_Main.html](http://fmp.conncoll.edu/Silicasecchidisk/LucidKeys/Carolina_Key/html/Selenastrum_Main.html).
- [53] Freshwater Algae: *Selenastrum capricornutum*. 1998. Dostupné z: <http://www.mfe.govt.nz/publications/water/whole-effluent-toxicity-nov98/whole-effluent-toxicity-appendix-4-nov98.pdf>.



- [54] Testování vlastností frikčních kompozitů používaných v brzdových systémech automobilů. In: *Agentura pro regionální rozvoj*. 2013. Dostupné z: <http://arr.cz/cs/inovace/medailonky/538-vladimir-tomasek>.
- [55] Kompaktní brzdový dynamometr. 2013. Dostupné z: [http://www.verejna-  
sou-  
tez.cz/ausschreibungen/index~2226JE80767CB44456BEACBAA476B4B04A8  
EA48A4496BEB2B2AE584E72B0A842A89272564A4EA65EB856AE569EB0  
866480645E70A05E66641&meta.htm](http://www.verejnasou-<br/>tez.cz/ausschreibungen/index~2226JE80767CB44456BEACBAA476B4B04A8<br/>EA48A4496BEB2B2AE584E72B0A842A89272564A4EA65EB856AE569EB0<br/>866480645E70A05E66641&meta.htm).
- [56] Alga, growth inhibition test 201; organisation for economic cooperation and development; oecd guidelines for testing chemicals 201, 1984.